



Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Kemijski odsjek

Barbara Debanić

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# STEROIDI

## Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ines Primožič

Zagreb, 2018. godina



Datum predaje prve verzije Završnog rada:

22. kolovoza 2018.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

7. rujna 2018.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ines Primožič

Potpis:



# Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Podjela steroida .....	1
1.1.1. Kolesterol .....	6
§ 2. STRUKTURNE KARAKTERISTIKE.....	8
§ 3. BIOSINTEZA STEROIDA.....	12
3.1. Prvi korak biosinteze.....	12
3.2. Drugi korak biosinteze .....	14
3.3. Treći korak biosinteze.....	16
§ 4. REAKCIJE STEROIDA (NA PRIMJERU KOLESTEROLA).....	17
§ 5. SINTEZA STEROIDA .....	23
§ 6. BIOLOŠKI VAŽNI STEROIDI .....	33
6.1. Žučne kiseline .....	33
6.2. Vitamin D.....	34
6.3. Spolni hormoni .....	38
LITERATURNI IZVORI .....	49



## § Sažetak

Steroidi su skupina spojeva u koju ubrajamo steroidne alkohole ili sterole, vitamin D, žučne kiseline, spolne hormone i hormone nadbubrežnih žlijezda. Imaju karakterističnu steroidnu jezgu koja se sastoji od četiri međusobno povezanim prstena koji mogu imati bočni lanac ili neke dodatne funkcionalne skupine.

Uloge steroida su različite. Oni mogu biti sastavni dijelovi staničnih membrana, prekursori za različite sinteze i biosinteze, služe kao signalne molekule, imaju antioksidativna i antirahitička svojstva, sudjeluju u metabolizmu kalcija i u rastu kostiju, koriste se kao lijekovi kod nekih vrsta rakova i imaju još mnogo drugih pozitivnih učinaka.

Steroidi isto tako mogu biti i uzročnici bolesti. Neke od njih su: osteoporoza, rak, dijabetes, srčani udar i ostale kardiovaskularne bolesti, rak prostate ili dojke, i tako dalje.

Kolesterol je glavni predstavnik steroida i ima značajnu ulogu kako u životinjskom tako i u ljudskom organizmu. Budući da je on najrašireniji steroid, ovaj rad će se ponajviše bazirati na opisu njegovih svojstava i uloga te će isto tako biti navedene i neke njegove karakteristične reakcije i najpoznatiji (bio)sintetski putevi.

U završnome poglavlju će biti malo detaljnije obrađeni i neki drugi biološki važni steroidi.

## § 1. UVOD

Steroidi su skupina spojeva koji se ubrajaju u lipide. Svi spojevi koji pripadaju skupini steroida su strukturno slični. Možemo ih pronaći u biljkama, životinjama ili gljivama.<sup>1</sup>

Lipidi su, općenito, biomolekule koje su netopljive u vodi, a topljive u organskim otapalima. Osnovne uloge lipida, a samim time i steroida, su da sudjeluju u izgradnji staničnih membrana te djeluju kao signalne molekule i glasnici u prijenosu signala.

Postoje 3 vrste membranskih lipida: fosfolipidi, glikolipidi i kolesterol.<sup>2</sup>

### 1.1. Podjela steroida <sup>1</sup>

#### 1. Steroidni alkoholi (steroli):

- Životinjski steroli (Slika 1.):
  - a) Kolesterol
  - b) Kolestanol
  - c) Koprostanol
- Biljni steroli (Slika 2.):
  - a) Ergosterol
  - b) Stigmasterol

#### 2. Vitamin D (Slika 3.):

- a) Vitamin D<sub>2</sub> (ergokalciferol)
- b) Vitamin D<sub>3</sub> (kolekalciferol)
- c) Vitamin D<sub>4</sub>

#### 3. Žučne kiseline (Slika 4.):

- a) Kolna kiselina
- b) Deoksikolna kiselina
- c) Litokolna kiselina

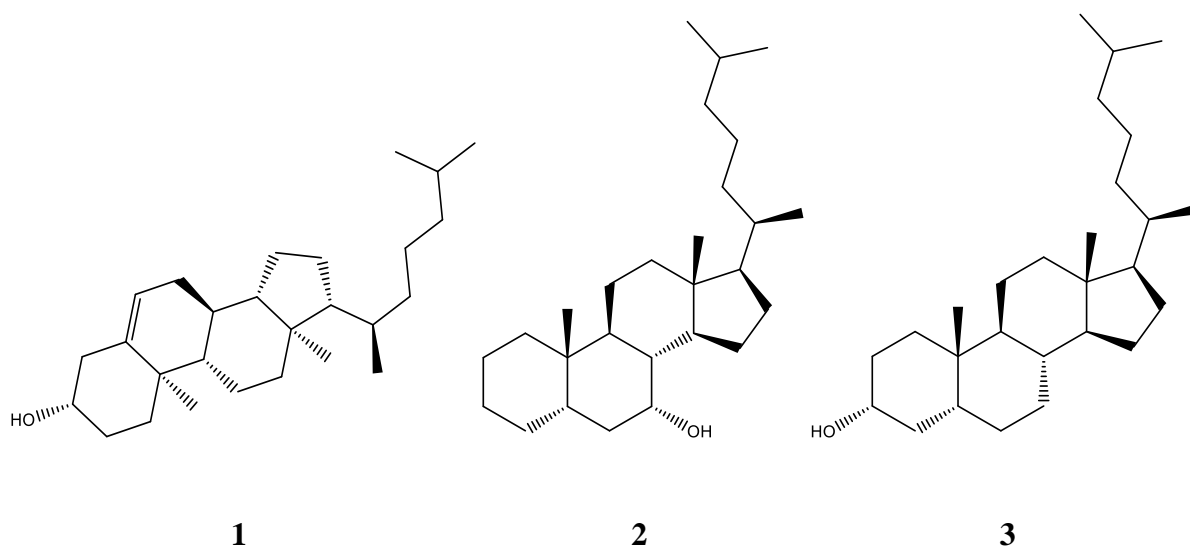


## 4. Spolni hormoni (Slika 5.):

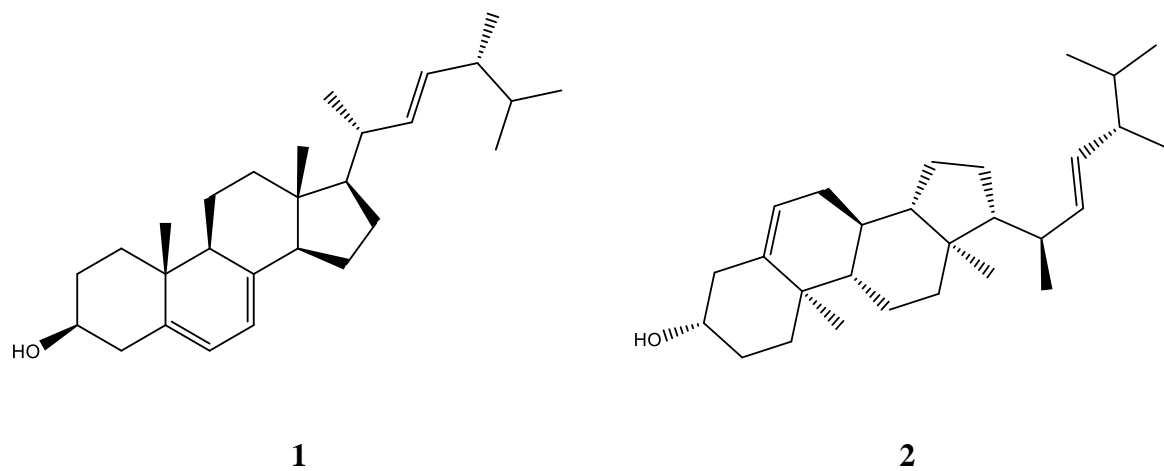
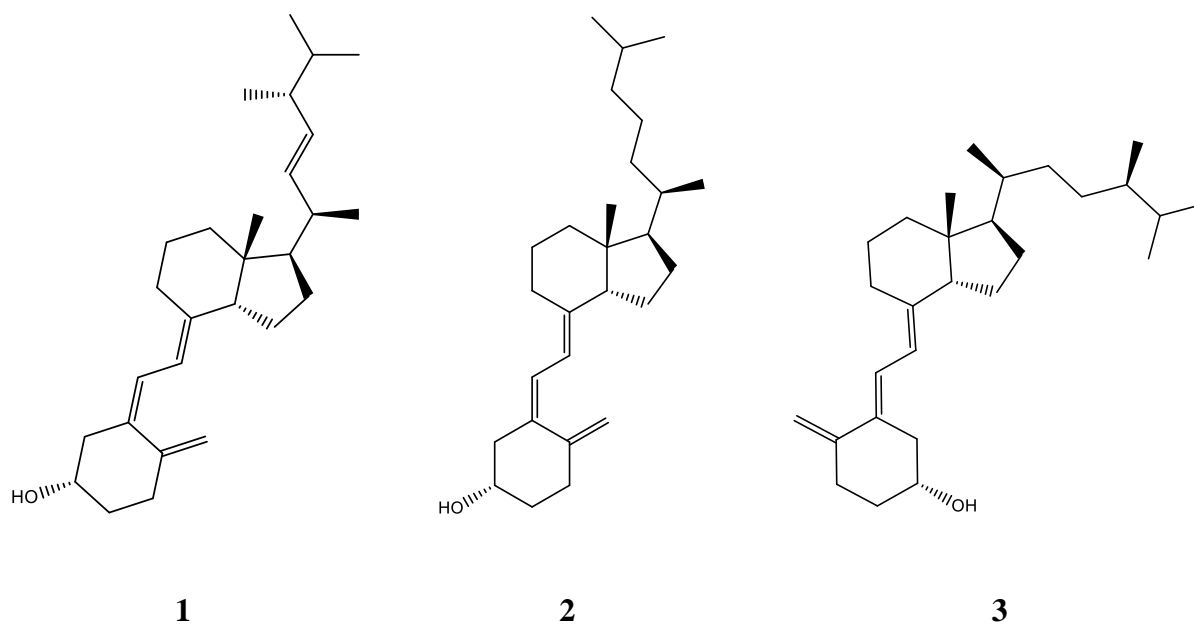
- Muški spolni hormon (androgeni) – testosteron
- Ženski spolni hormoni (estrogeni):
  - a) Estron
  - b) Estriol
  - c) Estradiol
- Gestageni hormoni - progesteron

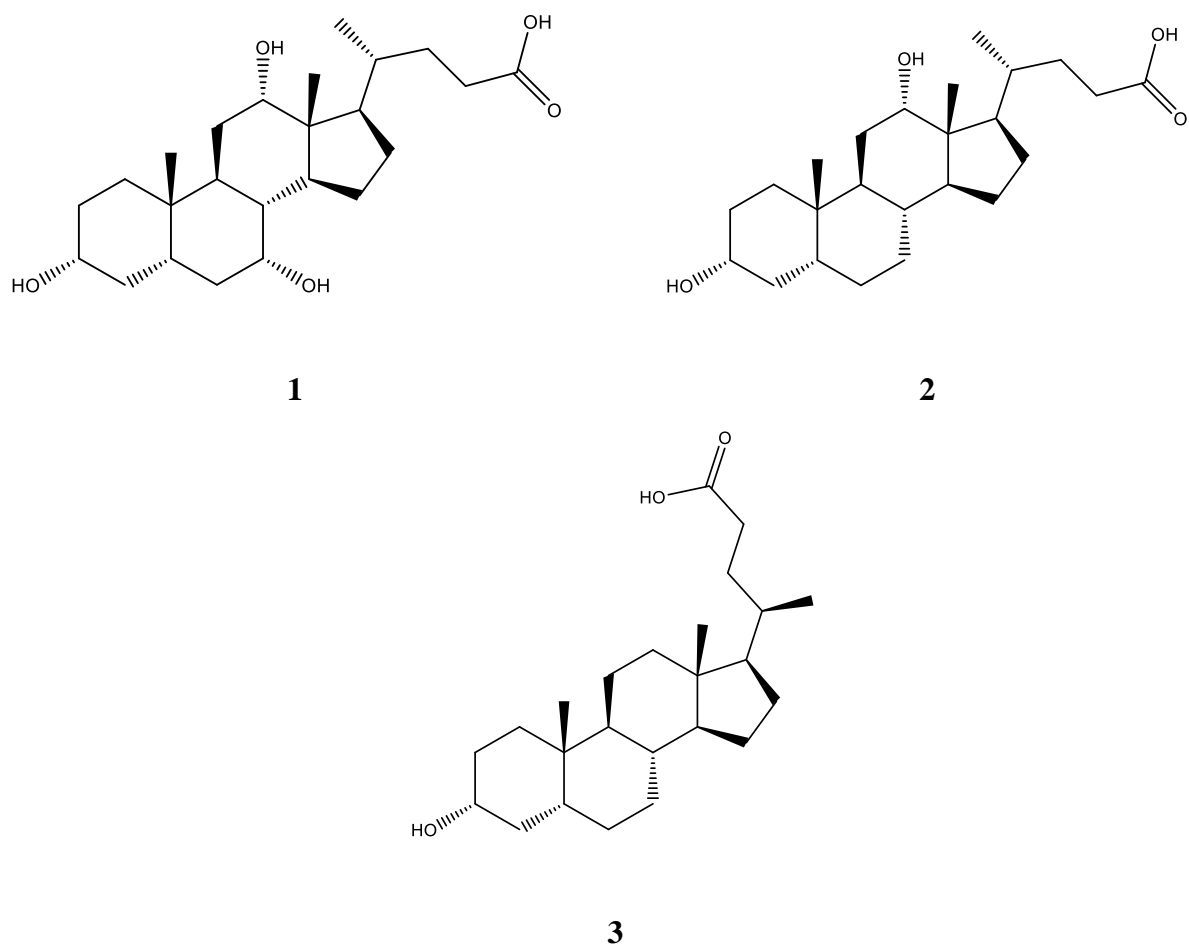
## 5. Hormoni nadbubrežnih žlijezda (Slika 6.):

- a) Aldosteron
- b) Kortizol
- c) Kortikosteron

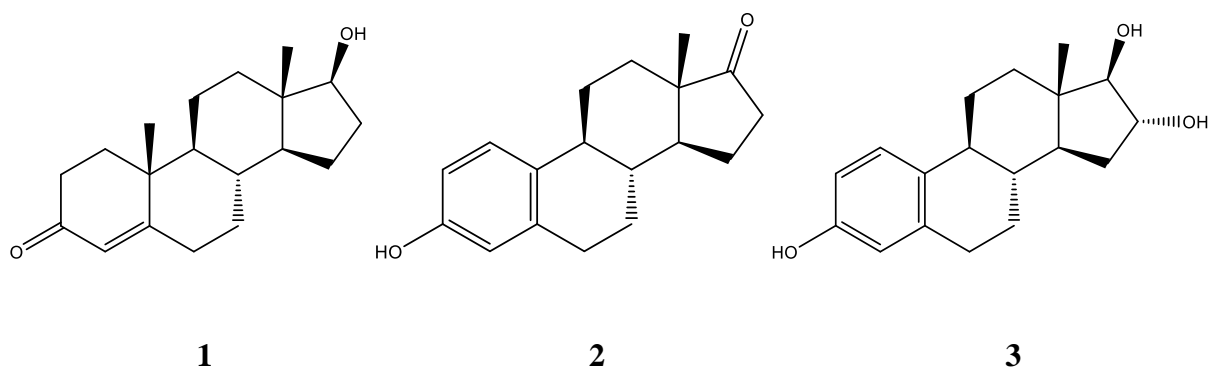


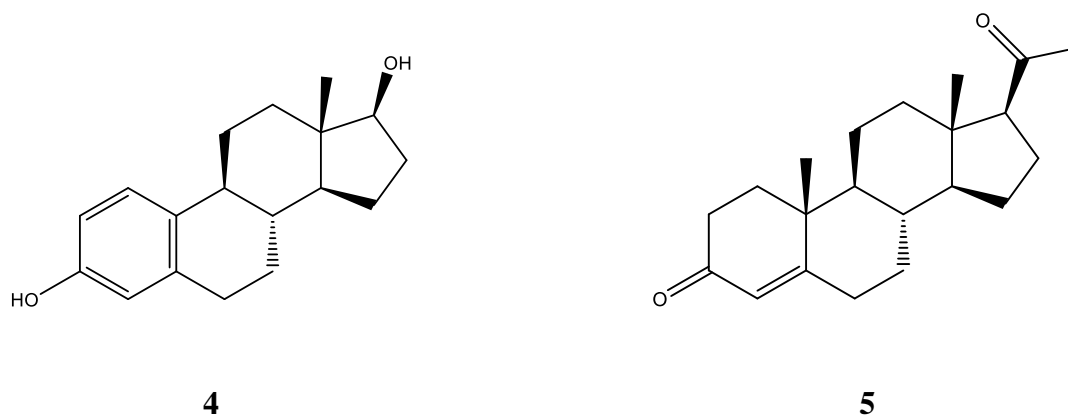
Slika 1. Strukturne formule životinjskih sterola (redom: **1**-kolesterol, **2**-kolestanol, **3**-koprostanol)

Slika 2. Strukturne formule biljnih sterola (redom: **1**-ergosterol, **2**-stigmasterol)Slika 3. Strukturne formule vitamina D (redom: **1**-vitamin D<sub>2</sub>, **2**-vitamin D<sub>3</sub>, **3**-vitamin D<sub>4</sub>)

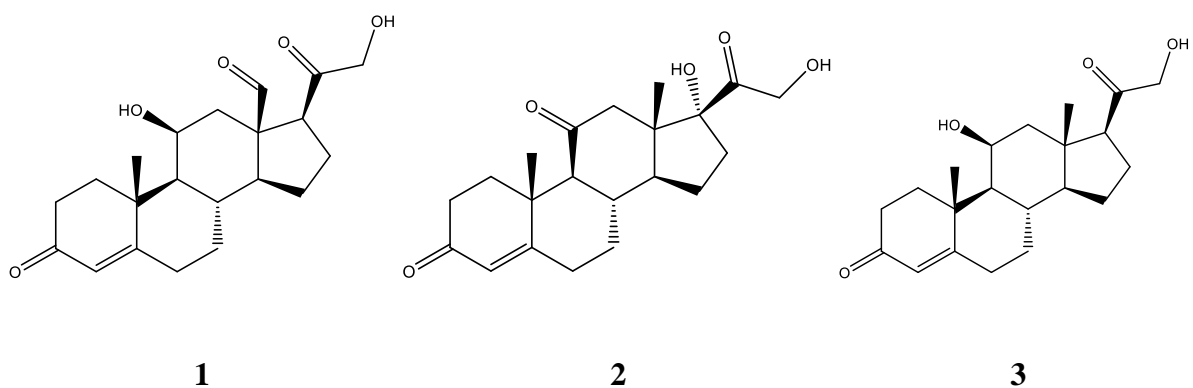


Slika 4. Strukturne formule žučnih kiselina (redom: **1**-kolna kiselina, **2**-deoksikolna kiselina, **3**-litokolna kiselina)





Slika 5. Strukturne formule spolnih hormona (redom: **1**-testosteron, **2**-estron, **3**-estriol, **4**-estradiol, **5**-progesteron)

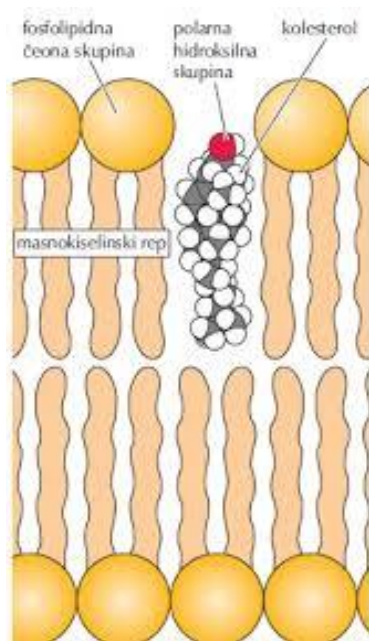


Slika 6. Strukturne formule hormona nadbubrežnih žlijezda (redom: **1**-aldosteron, **2**-kortizol, **3**-kortikosteron)

### 1.1.1. Kolesterol

Kolesterol je najrašireniji steroid i on je prisutan i kao membranska komponenta i kao preteča mnogih signalnih molekula.<sup>2</sup> Prekursor je za biosintezu spolnih hormona, hormona nadbubrežnih žlijezda te vitamina D. On pripada skupini životinjskih sterola iako ga nalazimo i kod ljudi (odrasli čovjek prosječno ima oko 250 g kolesterola).<sup>3</sup> Žučni kamenci se u potpunosti sastoje od kolesterola te je iz njih prvi puta i izoliran.<sup>4,1</sup> Kod životinja ga nalazimo u mozgu i leđnoj moždini.<sup>1</sup> Kolesterol može činiti 25% membranskih lipida kod nekih stanica, a s druge strane, u nekim unutarstaničnim membranama ga ima jako malo.

Osnovna mu je uloga regulacija fluidnosti membrana kod sisavaca. Fluidnost membranskih lipida je važna za transport i prijenos signala. Kolesterol ulazi u fosfolipidni dvosloj, unutar stanične membrane, tako da mu "hidroksilna skupina tvori vodikov most s polarnom glavom fosfolipida, a ugljikovodični se lanac smjesti u nepolarnu jezgru dvosloja."<sup>2</sup> (Slika 7.)



Slika 7. Prikaz ugradnje kolesterola u staničnu membranu <sup>5</sup>

Neka istraživanja su dokazala da razina kolesterola u membranama utječe i na ionske kanale koji služe za prijenos iona unutar i izvan stanice. Primjeri tih ionskih kanala su  $K^+$  kanali,  $Ca^{2+}$  kanali te  $Na^+ - K^+$  pumpa. Kolesterol reagira s tim kanalima i regulira njihovo otvaranje tako što mijenja svojstva lipidnoga dvosloja koja direktno utječu na svojstva kanala ili se stvaraju specifične interakcije proteina i sterola koje utječu na aktivnost kanala.<sup>6</sup>

Kolesterol se prenosi tjelesnim tekućinama u obliku lipoproteinskih čestica. One se sastoje od hidrofobnih lipida koji su okruženi polarnijim lipidima i proteinima.

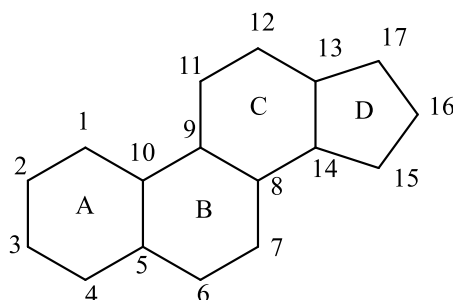
Postoje 2 vrste lipoproteinskih čestica: lipoproteini visoke gustoće (HDL) te lipoproteini niske gustoće (LDL). HDL vežu na sebe kolesterol koji se otpušta iz perifernih tkiva i esterificiraju ga te takav esterificirani kolesterol prenose u jetra ili tkiva koja ga upotrebljavaju za sintezu steroidnih hormona. LDL prenose kolesterol u krv te opskrbljuju periferna tkiva kolesterolom. HDL sadrže “dobar kolesterol”, a LDL sadrže “loš kolesterol” jer se taj kolesterol može vezati na stijenke krvnih žila i tako uzrokovati razne kardiovaskularne bolesti.<sup>2</sup>

Ateroskleroza je bolest uzrokovana taloženjem kolesterola na arterijama što uzrokuje njihovo sužavanje i stvaranje krvnih ugrušaka.<sup>4</sup> Kod zdrave osobe omjer HDL/LDL iznosi 3,5.

Kolesterol koji se prenosi uz pomoć LDL se unosi u stanice pomoću receptora za LDL koji se nalazi na površini stanice. Osobe kojima nedostaje receptor za LDL boluju od bolesti koja se naziva hiperkolesterolemija. Ona uzrokuje taloženje kolesterola u krvnim žilama i njegovu povišenu razinu u krvi pa su te osobe od rane dobi sklone moždanome udaru.<sup>2</sup>

## § 2. STRUKTURNE KARAKTERISTIKE

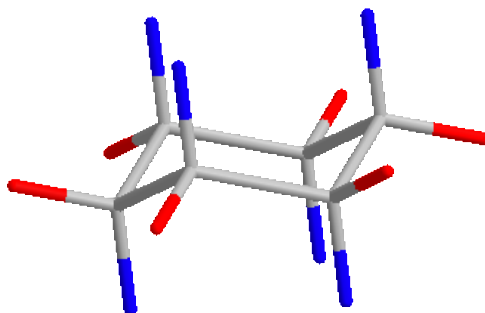
Svim steroidima je zajednički tetraciklički prstenasti sustav koji je prikazan na slici 8. On se sastoji od tri šesteročlana i jednoga peteročlanoga prstena.



Slika 8. Prikaz tetracikličkoga prstenastoga sustava steroida <sup>3</sup>

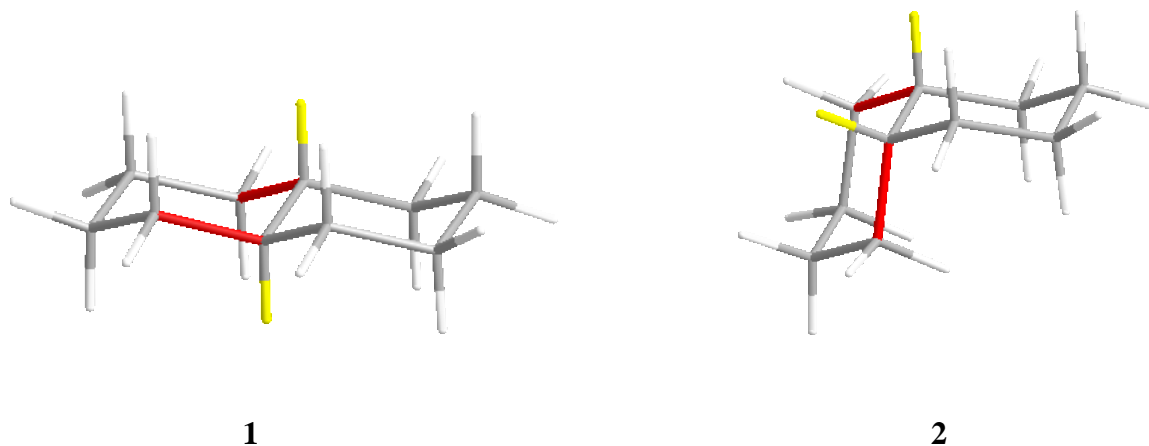
Ovi prirodni spojevi, koji sadrže istu steroidnu jezgru, razlikuju se u biološkim funkcijama zahvaljujući različitim funkcionalnim skupinama koje su vezane na tetraciklički prstenasti sustav.

Kod sustava koji se sastoje od dva ili više prstena, ti prsteni mogu postojati u dva dijastereoizomerna oblika. Oni mogu biti u *trans*-položaju (na primjer *trans*-dekalin) ili mogu biti u *cis*-položaju (na primjer *cis*-dekalin).



Slika 9. Prikaz aksijalnih (plavo) i ekvatorijalnih (crveno) pozicija kod cikloheksanskoga prstena

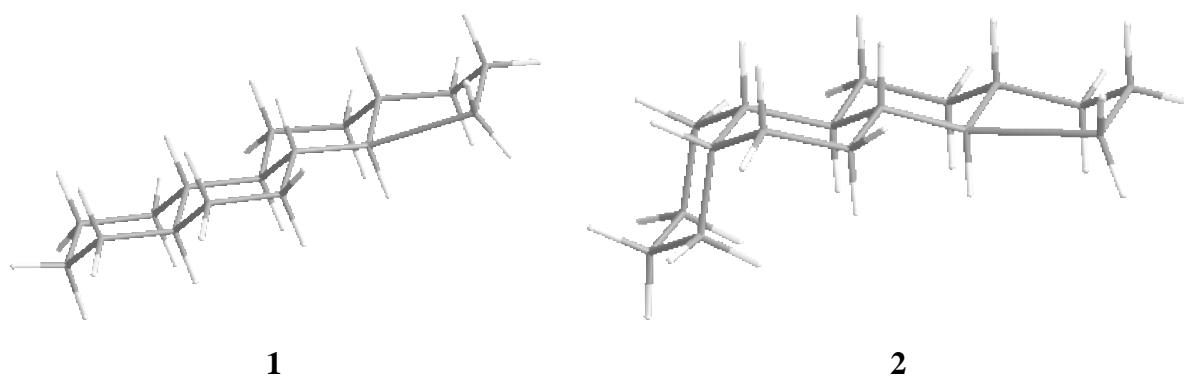
Kod cikloheksana imamo šest aksijalnih i šest ekvatorijalnih pozicija na kojima se može vezati neki supstituent, a koje su prikazane na slici 9. <sup>4</sup>



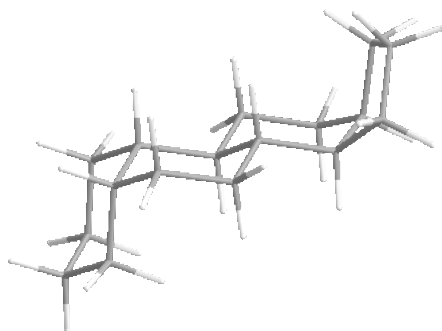
Slika 10. Prikaz konformacija sustava sa dva šesteročlana prstena (redom: **1**- *trans*-dekalin, **2** -*cis*-dekalin) <sup>4</sup>

Kod *trans*-dekalina se drugi prsten spaja sa prvim tako da oba mjesta vezanja budu u ekvatorijalnoj poziciji (vidi slika 10.1 crveno obojeno). Kod *cis*-dekalina se drugi prsten spaja sa prvim tako da jedno vezno mjesto bude u ekvatorijalnoj poziciji, a drugo vezno mjesto u aksijalnoj poziciji (vidi slika 10.2 crveno obojeno). I kod *cis* i kod *trans*-dekalina oba prstena su u konformaciji stolice jer je to energetski najpovoljnije. <sup>7</sup>

Budući da steroidi posjeduju četiri prstena, postoji nekoliko mogućih konformacijskih oblika (Slika 11.) s obzirom na način povezivanja tih prstena.

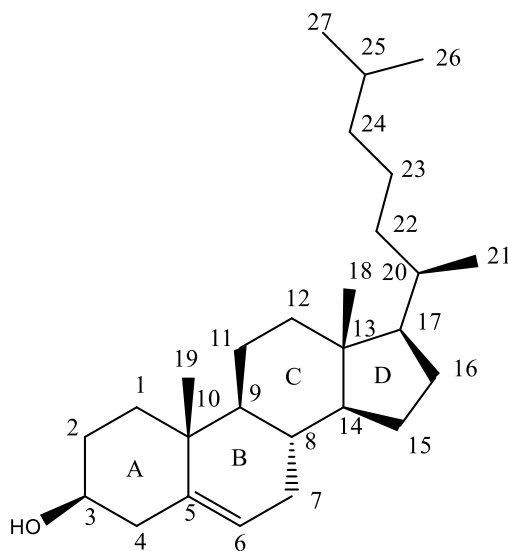




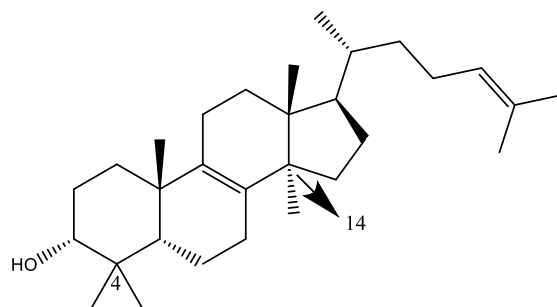
**3**

Slika 11. Konformacijski oblici tetracikličkoga prstenastoga sustava (redom: **1**- svi prsteni su u *trans*-položaju, **2**-A/B prstenovi su u *cis*-položaju, **3**-A/B i C/D prstenovi su u *cis*-položaju)<sup>4</sup>

Kolesterol (Slika 12.), kao predstavnik steroida, ima temeljnu strukturu i modifikacijom njegovoga bočnoga lanca možemo doći do drugih biološki važnih spojeva, a samim time i do drugih steroida. Njegova struktura je vrlo slična strukturi lanosterola (Slika 13.) koji pripada skupini spojeva pod nazivom triterpenoidni alkoholi. Razlika između lanosterola i kolesterola je u tome što kolesterol ne posjeduje metilne skupine na položajima C<sub>4</sub> i C<sub>14</sub> i ne posjeduje dvostruku vezu na bočnome lancu.<sup>4</sup>

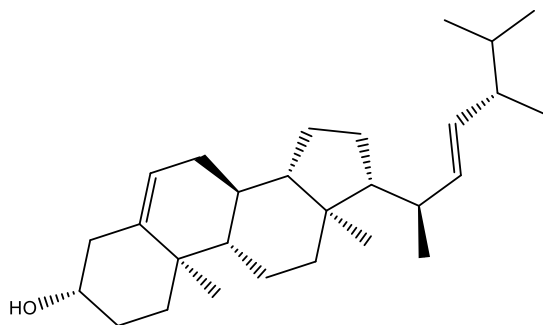


Slika 12. Strukturna formula kolesterola



Slika 13. Strukturna formula lanosterola

Kolesterol obično ne nalazimo u biljkama, ali je njegova struktura vrlo slična strukturi stigmasterola (Slika 14.) koji je prisutan u biljkama.<sup>3</sup>

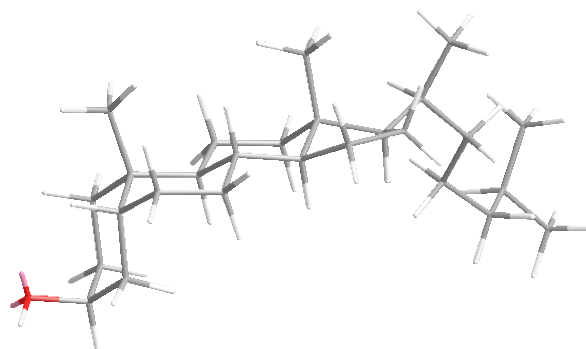


Slika 14. Prikaz strukturne formule stigmasterola

Kod stigmasterola, na bočnome lancu je prisutna dvostruka veza koja je *trans*-orijentirana što je dokazano infracrvenom spektroskopijom. Takva *trans*-dvostruka veza na bočnome lancu je pronađena kod svih sterola koji imaju alkilne supstituente.<sup>8</sup>

Osim dvostruke veze na bočnome lancu, nezasićenost može biti prisutna i kod A/B prstenova na položajima C<sub>4</sub> ili C<sub>5</sub> ( $\Delta^4$  ili  $\Delta^5$ ). Prsten A može biti i aromatičan kao što je kod nekih spolnih hormona (Slika 5.).<sup>4</sup>

Većina prirodnih steroida imaju sva četiri prstena u *trans*-položaju. Izuzetak je na primjer koprostanol (Slika 15.) kojemu su prstenovi A i B u *cis*-položaju.<sup>7</sup>



Slika 15. Struktura koprostanola

## § 3. BIOSINTEZA STEROIDA

Na slikama 16., 17. i 18. je prikazana biosinteza kolesterola kao temeljnoga steroida. Kolesterol možemo unijeti hranom ili ga možemo sintetizirati u jetri. Kofaktori koji se koriste kod biosinteze su ATP i NADPH.<sup>9</sup>

Kolesterol ima 27 ugljikova atoma i svaki ugljikov atom potječe od acetil-CoA.

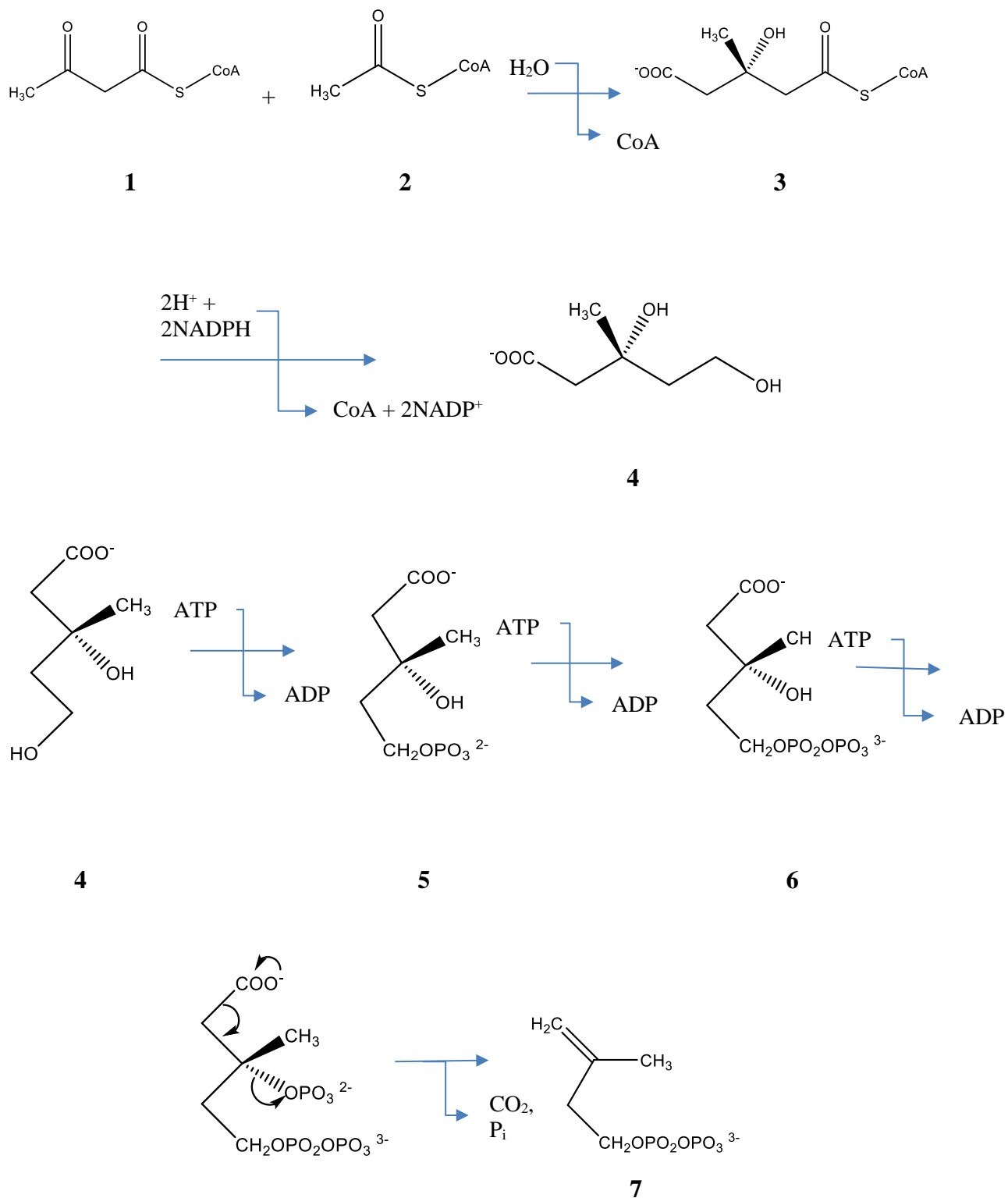
Biosintezu kolesterola možemo podijeliti u 3 koraka.<sup>2</sup>

### 3.1. Prvi korak biosinteze

U prvome koraku (Slika 16.) je prikazan put sinteze izopentenil-pirofosfata koji se izomerizira u dimetilalil-pirofosfat, a predstavlja aktiviranu izoprensku jedinicu koja čini temelj strukture kolesterola i drugih steroida. Mevalonat nastaje iz acetoacetyl-CoA i acetyl-CoA i on se prevodi u 3-izopentenil-pirofosfat i pri tome troši 3 molekule ATP-a. Prva molekula ATP-a se troši za fosforilaciju mevalonata koji se zatim prevodi u pirofosfomevalonat drugom ATP-ovisnom fosforilacijom.

Nakon toga dolazi do dehidratacije i dekarboksilacije (gubi se karboksilna skupina mevalonske kiseline) gdje se troši treća molekula ATP-a.<sup>2</sup> Acetyl-CoA, koji nam je potreban za dobivanje mevalonata, možemo dobiti  $\beta$ -oksidacijom masnih kiselina u mitohondrijima ili u reakciji koja se naziva oksidativna dekarboksilacija piruvata.<sup>9</sup>

## § 2. Prikaz odabrane teme



Slika 16. Prikaz sinteze izopentenil-pirofosfata (1-acetoacetyl-CoA, 2-acetyl-CoA, 3-hidroksimetilglutaril-CoA, 4-mevalonat, 5-fosfomevalonat, 6-pirofosfomevalonat, 7-izopentenil-pirofosfat) <sup>2</sup>

### **3.2. Drugi korak biosinteze**

U drugome koraku biosinteze (Slika 17.) dolazi do sinteze skvalena iz šest molekula izopentenil-pirofosfata. Reakcijom izopentenil-pirofosfata sa njegovim izomerom dimetilalil-pirofosfatom nastaje spoj geranil-pirofosfat koji ponovno reagira sa novom izopentenil-pirofosfatnom jedinicom i daje spoj farnezil-pirofosfat.<sup>2</sup> Izopentenil-pirofosfat i dimetilalil-pirofosfat predstavljaju aktivirane izoprenske jedinice.<sup>10</sup>

Istraživanja su pokazala da je mehanizam kojim nastaje farnezil-pirofosfat gotovo identičan mehanizmu kojim nastaju ciklički terpenoidi.<sup>11</sup>

Dvije molekule farnezil-pirofosfata se kondenziraju u skvalen.<sup>2</sup> Skvalen nastaje načinom kondenzacije kojega nazivamo glava-glava, a geranil-pirofosfat i farnezil-pirofosfat nastaju kondenzacijom na način glava-rep (glava predstavlja kraj na kojemu se nalazi pirofosfatna jedinica).<sup>10</sup> Sve izoprenske jedinice skvalena potječu od izomera dimetilalil-pirofosfata.<sup>11</sup>

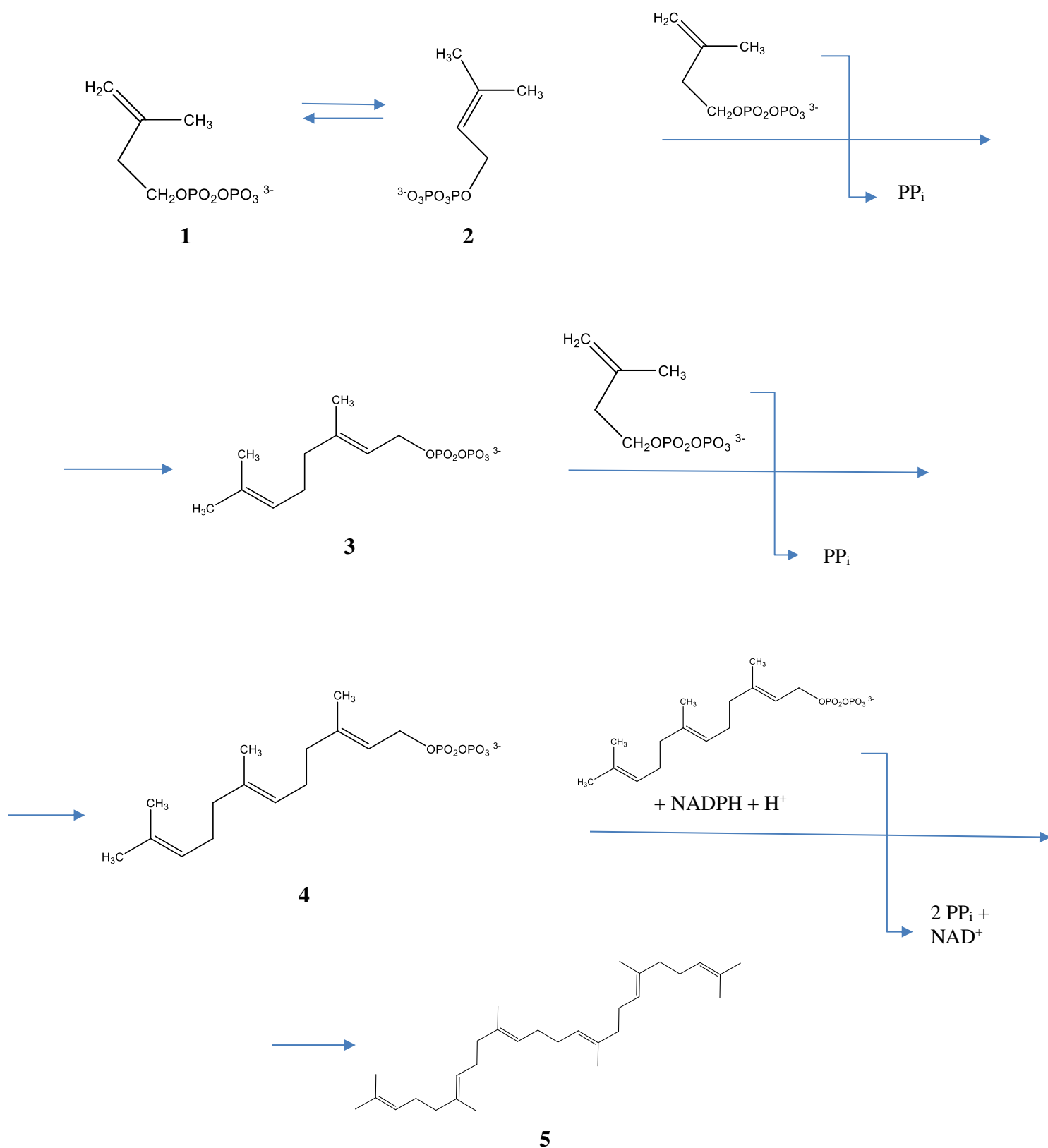
Predložena su dva hipotetska mehanizma kondenzacije farnezil-pirofosfata u skvalen.

U prvome mehanizmu, jedna molekula farnezil-pirofosfata se izomerizira u nerolidol-pirofosfat kod kojega C<sub>1</sub> atom metilenske skupine ulazi u S<sub>N</sub>2 reakciju sa atomom C<sub>1</sub> druge molekule farnezil-pirofosfata.

Pozitivan naboj koji nastaje odlaskom pirofosfatne skupine se može neutralizirati nastajanjem cikličkoga fosfata ili reakcijom sa metioninom uslijed čega nastaje sumporov spoj. Cijepanjem toga produkta se oslobađa skvalen.

U drugome mehanizmu dolazi do zamjene pirofosfatne skupine prvoga farnezil-pirofosfata sa sulfhidridnom skupinom enzima. Dobiveni spoj reagirajući sa drugom molekulom farnezil-pirofosfata stvara kompleks difarnezil-enzim koji podliježe mehanizmu kojim se dobiva središnja ugljik-ugljik veza skvalena. Reakcijom kompleksa sa trećom molekulom farnezil-pirofosfata se dobiva novi kompleks čijim se cijepanjem oslobađa skvalen i farnezil-S-enzim. Potrebna su detaljnija istraživanja ova dva mehanizma.<sup>11</sup>

## § 2. Prikaz odabrane teme



Slika 17. Prikaz sinteze skvalena (**1**-izopentenil-pirofosfat, **2**-dimetilalil-pirofosfat, **3**-geranil-pirofosfat, **4**-farnezil-pirofosfat, **5**-skvalen) <sup>2</sup>

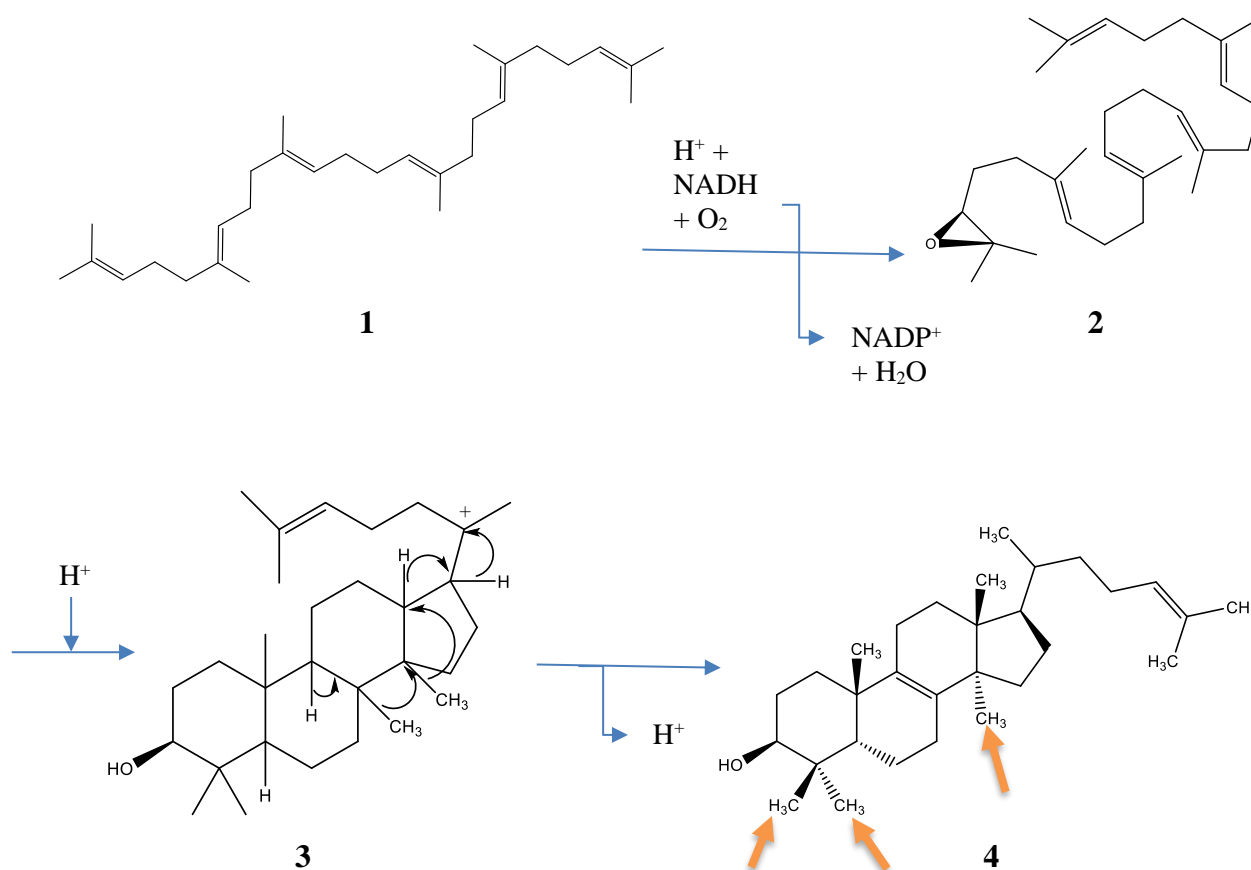
### 3.3. Treći korak biosinteze

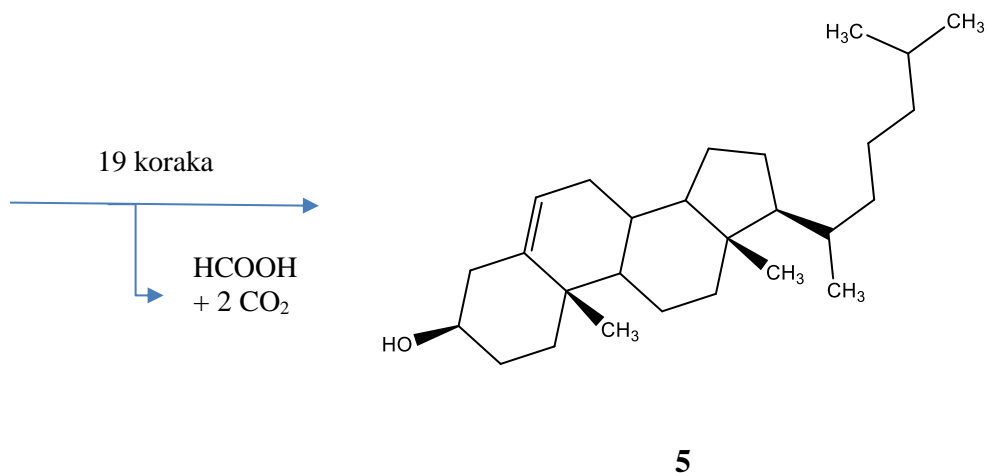
U zadnjem koraku biosinteze (Slika 18.) dolazi do ciklizacije skvalena i nastajanja lanosterola koji se prevodi u kolesterol.<sup>2</sup> Ta pretvorba je dokazana eksperimentom na štakorima gdje se lanosterol sintetizirao u tkivu štakora i zatim se nakon nekoga vremena u potpunosti metabolizirao u kolesterol.<sup>11</sup>

Skvalen je glavni prekursor kod biosinteze steroida. On se, uz pomoć molekule kisika i NADPH, pretvara u epoksid radi aktivacije, a zatim dolazi do zatvaranja prstena koje je povoljno “zbog sposobnosti skvalena da poprimi konformaciju u kojoj stereoelektronski utjecaji pogoduju nastajanju veza među nezasićenim ugljikovim atomima na način *anti*.”<sup>3</sup>

L. Ružička je dokazao da prilikom pretvorbe skvalena u lanosterol dolazi do migracije dviju metilnih skupina skvalena: s atoma C<sub>14</sub> na atom C<sub>13</sub> i s atoma C<sub>8</sub> na atom C<sub>14</sub>.

U posljednjem koraku biosinteze lanosterol gubi tri metilne skupine (vidi Slika 18.-narančaste strelice) u obliku HCOOH i 2CO<sub>2</sub>, dolazi do zamjene Δ<sup>8</sup> sa Δ<sup>5</sup> i bočni lanac se zasićuje pri čemu nastaje kolesterol.<sup>11</sup>

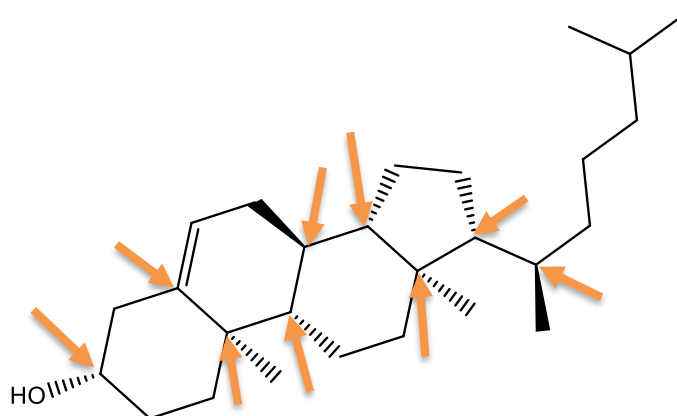




Slika 18. Prikaz sinteze kolesterola (1-skvalen, 2-skvalen-epoksid, 3-protosterolni kation, 4-lanosterol, 5-kolesterol)

## § 4. REAKCIJE STEROIDA (NA PRIMJERU KOLESTEROLA)

Budući da kolesterol posjeduje devet kiralnih centara (Slika 19.), broj mogućih stereoizomera koje možemo pronaći kod njega je 512 ( $2^n = 2^9 = 512$ , gdje n označava broj asimetričnih centara).



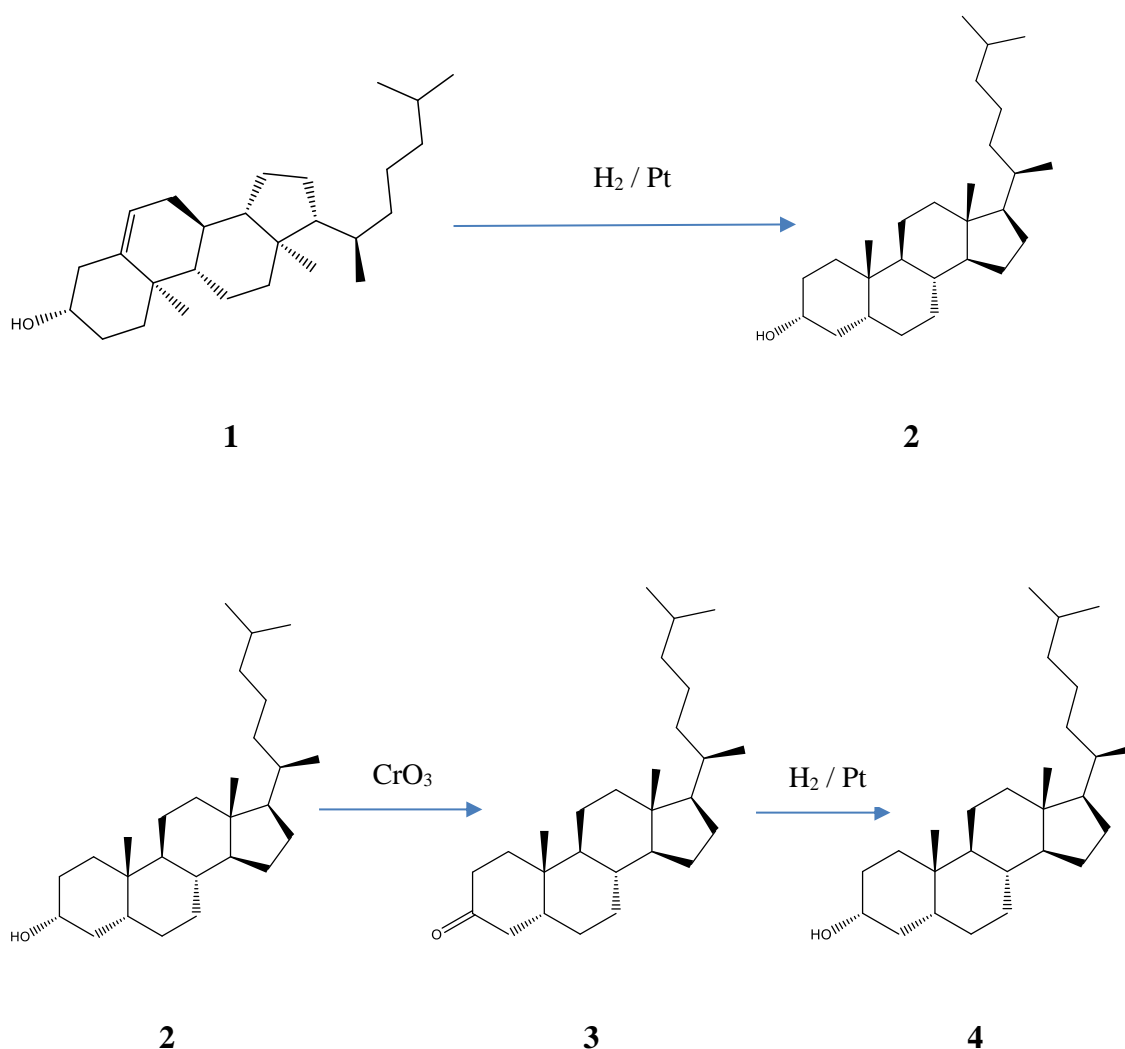
Slika 19. Kiralni centri kod kolesterola (narančaste strelice)



Neki od derivata kolesterola su kolestanol i koprostanol.<sup>3</sup>

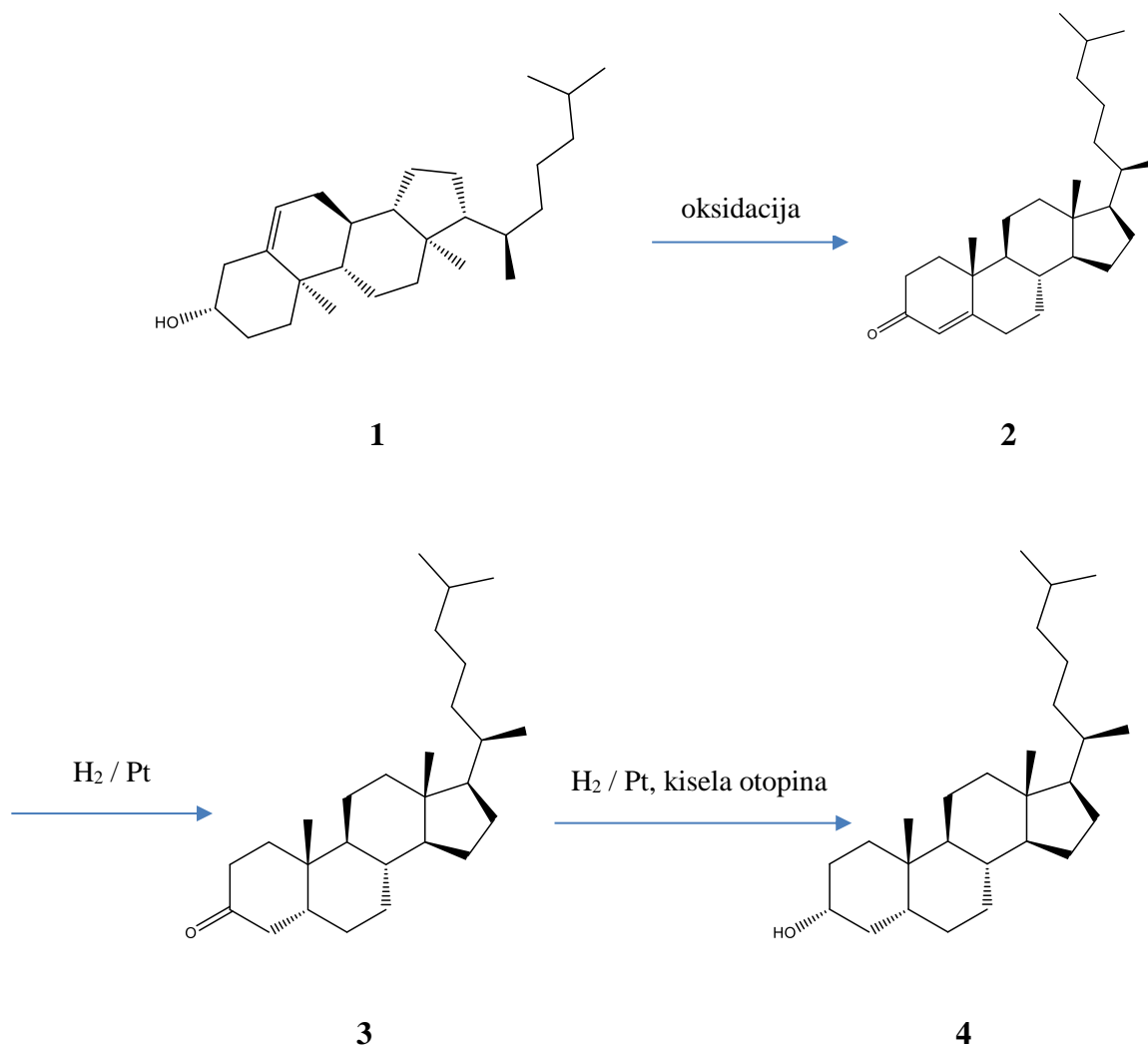
Kolestanol možemo dobiti katalitičkom hidrogenacijom kolesterola (Slika 20.). Daljnjom oksidacijom kolestanola sa kromovim trioksidom dobijemo kolestanon koji se može katalitički reducirati u neutralnoj otopini i pri tome se ponovno dobije kolestanol kao produkt.

Produkti dobiveni katalitičkom redukcijom dvostruke veze u neutralnoj otopini su obično *trans*-spojevi, a oni dobiveni u kiselj otopini su *cis*-spojevi. Ovo pravilo su otkrili Auwers i Skita pa se ono i naziva Auwers-Skita pravilo.<sup>1</sup>



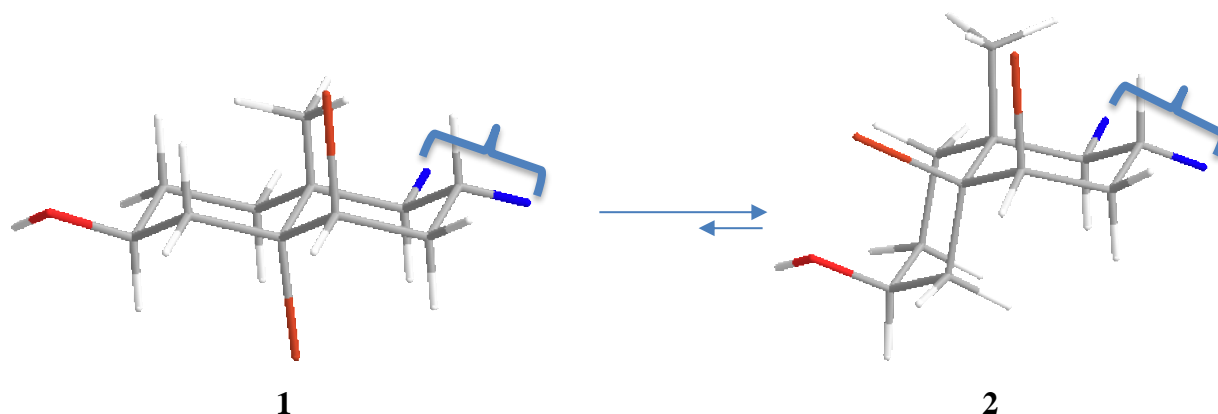
Slika 20. Dobivanje kolestanola (1-kolesterol, 2-kolestanol, 3-kolestanon, 4-kolestanol)

Oksidacijom kolesterola uz pomoć aluminijeva tert-butoksida u acetonu dobije se kolest-4-en-3-on. Produkt njegova hidrogeniranja je koprostanon koji redukcijom uz pomoć platine, u kiselj otropini, daje drugi poznati derivat kolestrola, koprostanol (Slika 21.).



Slika 21. Dobivanje koprostanola (**1**-kolesterol, **2**-kolest-4-en-3-on, **3**-koprostanon, **4**-koprostanol) <sup>1</sup>

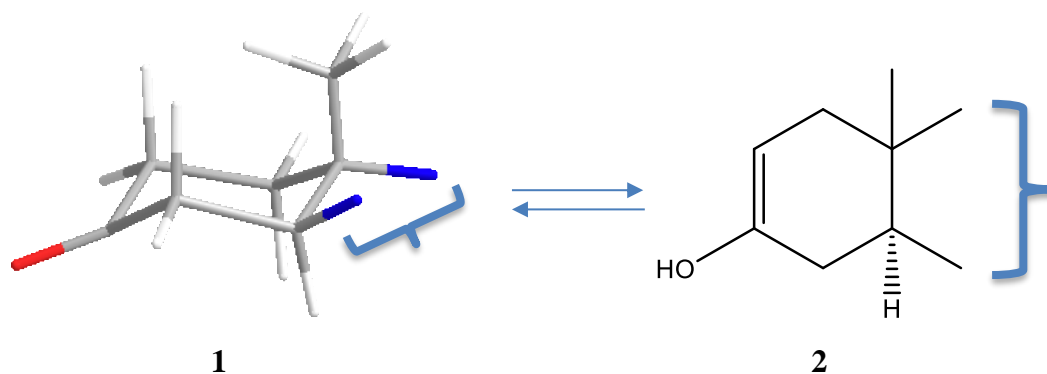
Adicijom molekule broma na dvostruku vezu kod kolesterola (na atome C<sub>5</sub> i C<sub>6</sub>) dobije se *trans*-5,6-dibromo produkt koji je prikazan na slici 22.:

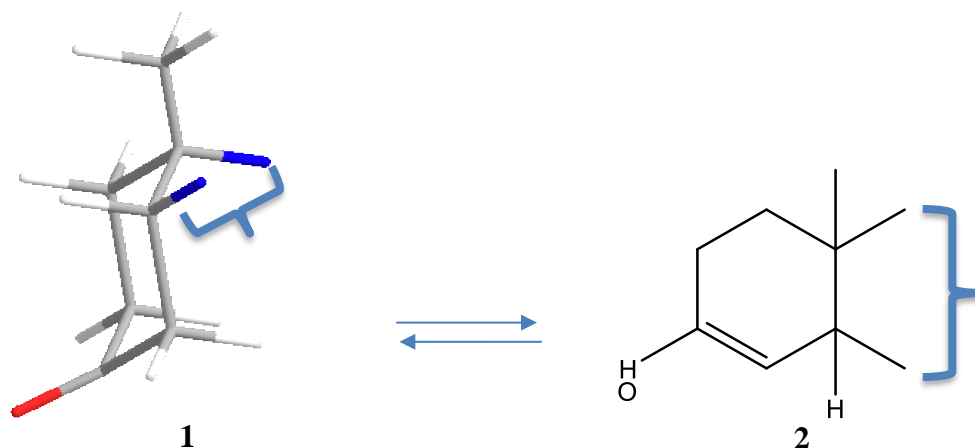
Slika 22. Bromiranje kolesterola (**1**-*trans*-diaksijal, **2**-*trans*-diekvatorijal)

Dobije se smjesa *trans*-diaksijalne i *trans*-diekvatorijalne komponente. *Trans*-diaksijalna forma je kinetički kontrolirana za razliku od *trans*-diekvatorijalne forme koja je termodinamički kontrolirana forma.

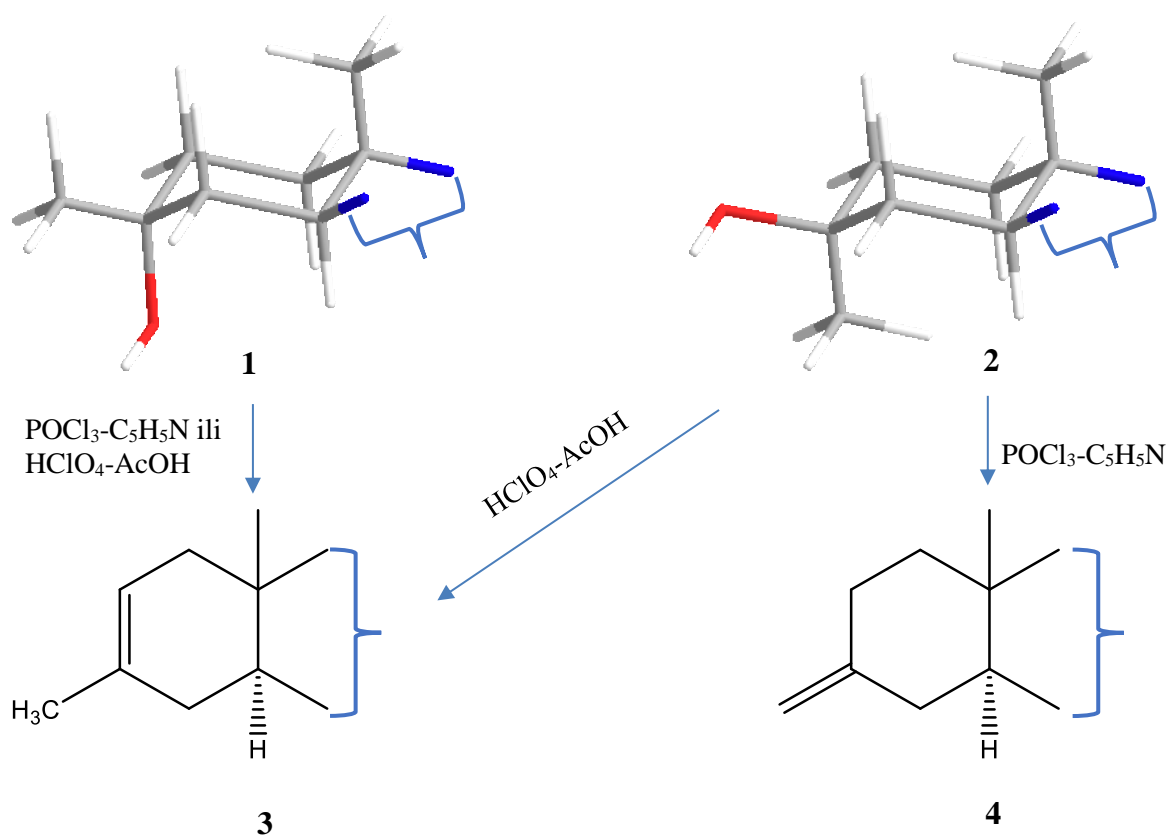
Kod bromiranja koprostanona, ovisno o konfiguraciji C<sub>5</sub> atoma dobije se određeni produkt. Postoje dvije moguće konfiguracije:  $\alpha$  i  $\beta$ .  $\alpha$ -konfiguracija je prisutna kada se atom ili skupina nalaze ispod ravnine prstena, a ako se nalaze iznad ravnine prstena radi se o  $\beta$ -konfiguraciji.

Ako se radi o 5- $\alpha$ -kolestanonu, produkt bromiranja će biti 2-bromo spoj, a ako je polazni spoj 5- $\beta$ -kolestanon, produkt koji će nastati je 4-bromo spoj. Do razlike dolazi zbog toga što se 5- $\alpha$ -keton enolizira u formu u kojoj je dvostruka veza na C<sub>2</sub> atomu (Slika 23.), a 5- $\beta$ -keton se enolizira u formu u kojoj je dvostruka veza na C<sub>3</sub> atomu (Slika 24.)

Slika 23. Enolizacija 5- $\alpha$ -ketona (**1**-keto forma, **2**-enolna forma)

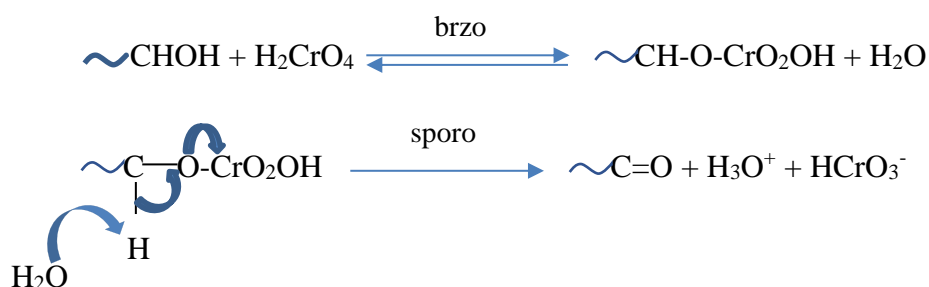
Slika 24. Enolizacija 5-β-ketona (**1**-keto forma, **2**-enolna forma)

Debromiranje kolesterol-dibromida se može izvršiti pomoću natrijeva bromida u acetonu, a reakcija pripada bimolekularnoj eliminacijskoj reakciji. Još jedan primjer takve vrste reakcije je prikazan na slici 25.



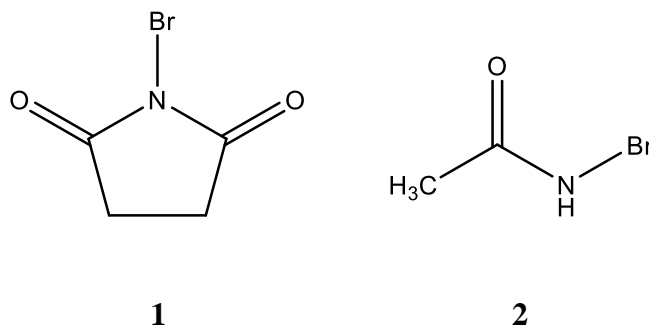
Slika 25. Bimolekularna eliminacijska reakcija - diaksijalna eliminacija na primjeru 3-metil-kolestanola (**1**-3-α-metil-kolestanol, **2**-3-β-metil-kolestanol, **3**-2-metilen derivat, **4**-3-metilen derivat)

Za oksidaciju sekundarnih alkohola može se koristiti kromna kiselina (Slika 26.). Brzina oksidacije ovisi o tome nalazi li se hidroksilna skupina alkohola u ekvatorijalnoj ili aksijalnoj poziciji. Aksijalni alkoholi se oksidiraju brže od ekvatorijalnih.



Slika 26. Prikaz oksidacije sekundarnoga alkohola kromnom kiselinom <sup>1</sup>

Oksidacijska sredstva koja su pogodna za oksidaciju aksijalnih alkohola su *N*-bromoacetamid ili *N*-bromosukcinimid (Slika 27.) u acetonu ili dioksanu.



Slika 27. Oksidacijska sredstva (**1**-*N*-bromosukcinimid, **2**-*N*-bromoacetamid) <sup>1</sup>

Kolesterol je podložan reakciji esterifikacije. Mogu se dobiti različite vrste estera kao što su karboksilni esteri, koji se mogu dobiti reakcijom kiselinskog anhidrida sa kolesterolom u piridinu, sulfonski esteri, koji se mogu dobiti pomoću piridina i kiselinskog klorida, te mnogi drugi.

Hidroksilna skupina steroida se može zaštititi pomoću dihidropirana pri čemu nastaju tetrahidropirani-eteri. Tretmanom sa vodenom otopinom kiseline ponovno se dobije slobodna hidroksilna skupina.<sup>12</sup>

## § 5. SINTEZA STEROIDA

Slike 28.-33. prikazuje jedan put sinteze kolesterola kojega su sintetizirali znanstvenici R. Robinson i Woodward.<sup>1</sup> Prilikom izgradnje steroidnih prstena koriste se Robinsonova anelacija i Diels-Alderova cikloadicija.<sup>3</sup> Najčešći polazni spojevi koji se koriste kod sinteze steroida su enoli, spojevi sa keto skupinama ili nezasićeni ciklički spojevi.<sup>13</sup>

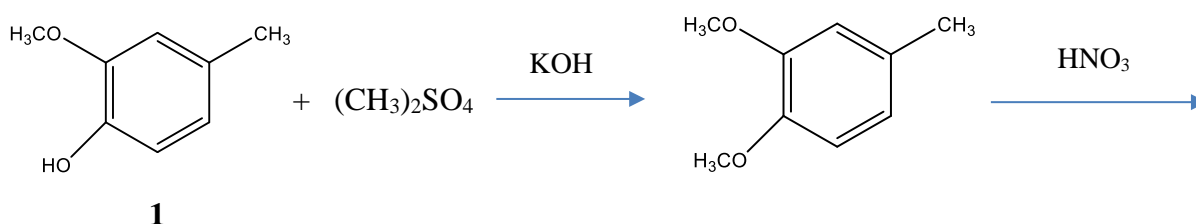
Mehanizam Robinsonove anelacije se sastoji od nekoliko koraka. Prvi korak obuhvaća stvaranje enolata i konjugiranu adiciju. Drugi korak čini intramolekularna aldolna reakcija, a posljednji korak se sastoji od E1cB reakcija dehidratacije.<sup>7</sup>

Reaktanti kod Diels-Alderove cikloadicije se nazivaju dien i dienofil. Reakcija se odvija u jednome koraku i obuhvaća ciklizaciju nezasićenih spojeva kao što su alkeni i alkini.

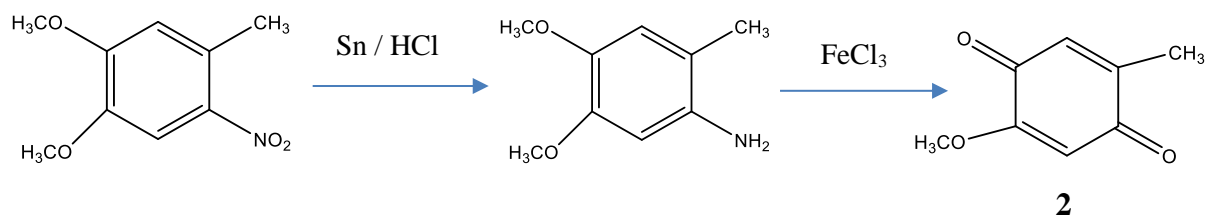
Kod sinteze steroida još se koriste i mehanizmi Claisenove reakcije i Michaelove adicije. Claisenovu reakciju karakterizira reakcija između dvaju estera. Nukleofil je enoladni anion jednoga estera, a elektrofil čini karbonilna skupina drugoga estera.

Michaelova reakcija je također jedna vrsta reakcije za dobivanje veze ugljik-ugljik i ona pripada skupini reakcija koje nazivamo konjugiranim adicijama. Dolazi do konjugirane adicije karbaniona, odnosno enolatnih aniona, na različite supstrate kao što su nitrili, esteri, amidi i mnogi drugi.<sup>3</sup>

Polazni spoj kod sinteze kolesterola je 2-metoksi-*p*-krezol koji je prikazan na slici 28.

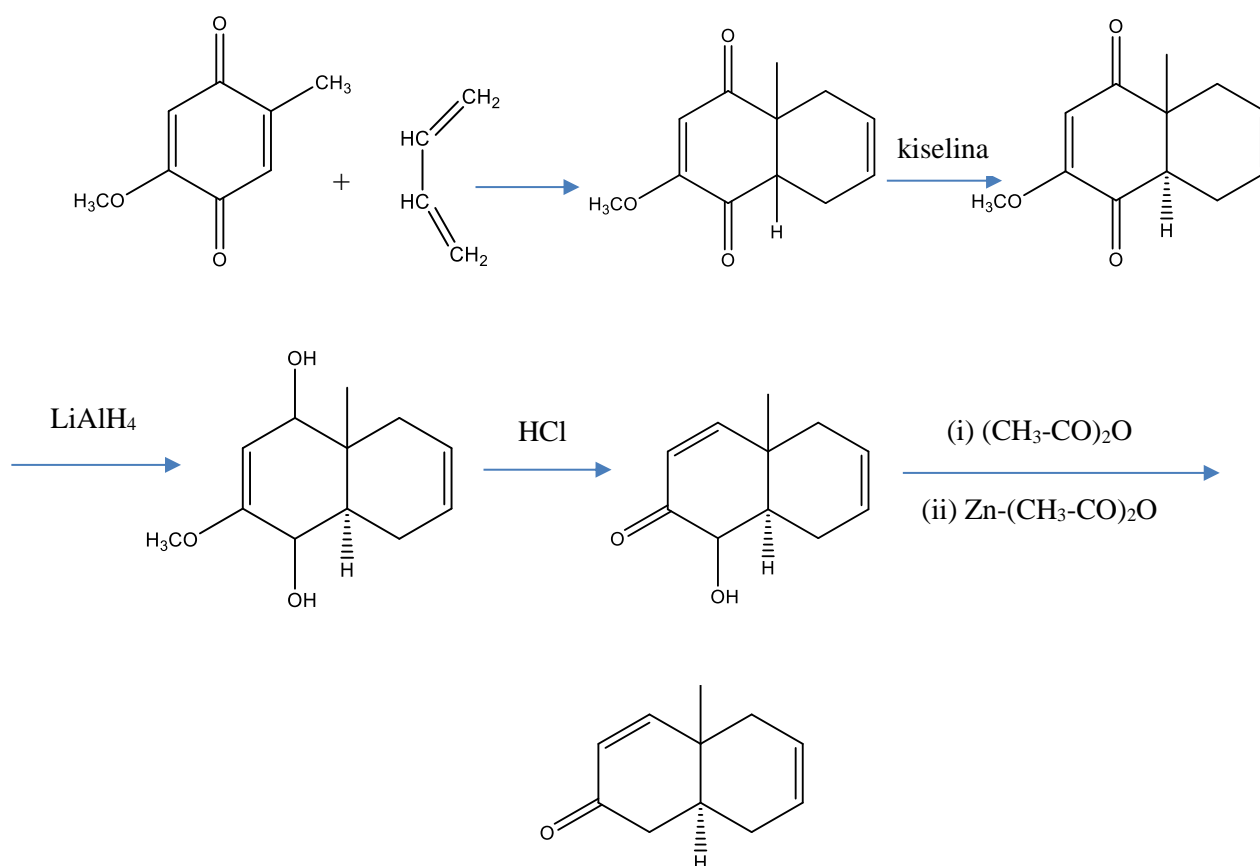


## § 2. Prikaz odabrane teme



Slika 28. Prikaz sinteze 2-metoksi-5-metil-1,4-benzokinona (1-2-metoksi-*p*-krezol, 2-2-metoksi-5-metil-1,4-benzokinon)

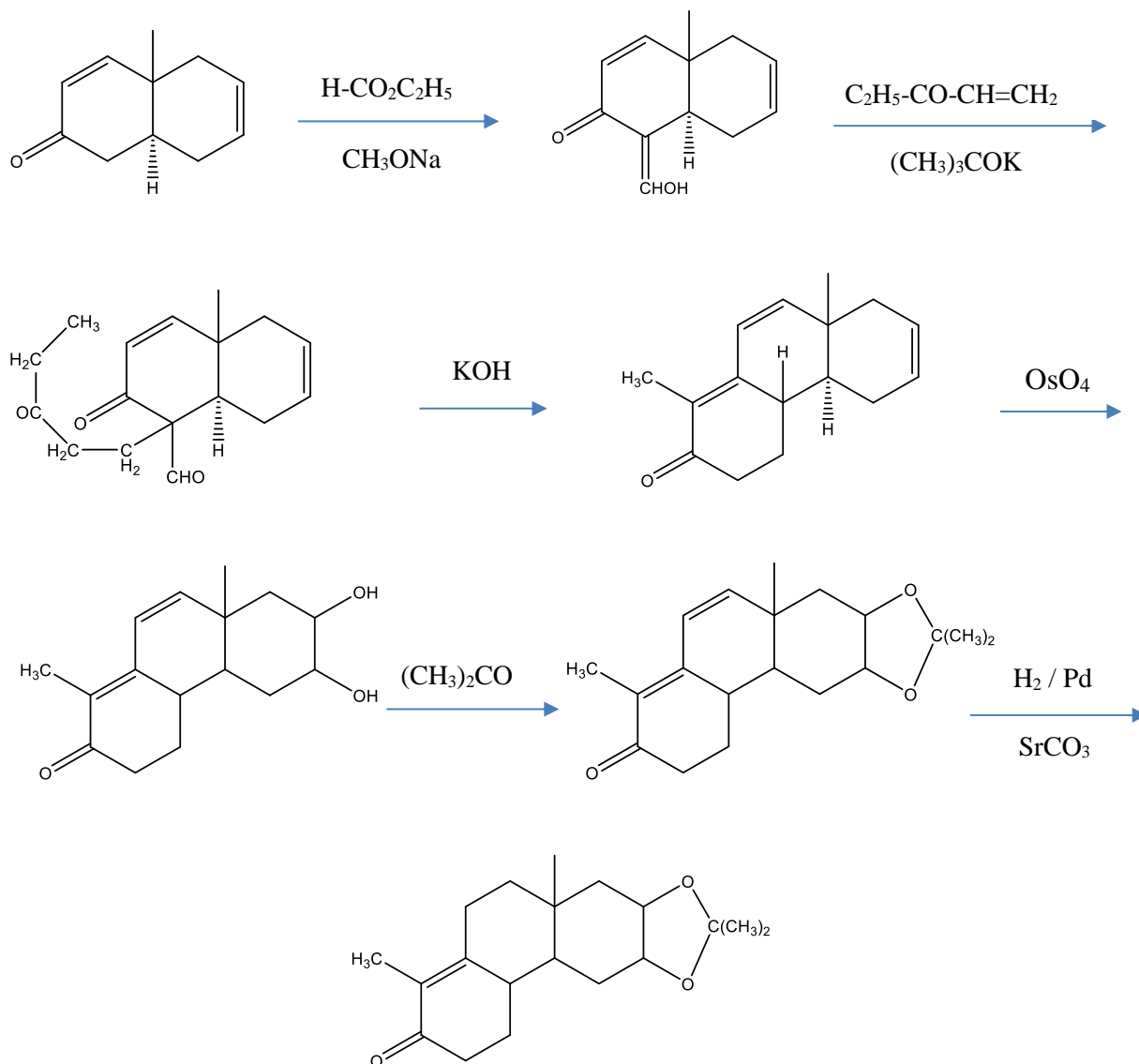
Nakon sinteze 2-metoksi-5-metil-1,4-benzokinona, on se Diels-Alderovom reakcijom kondenzira sa butadienom pri čemu nastaje *cis*-produkt koji se izomerizira u *trans*-produkt. Taj se *trans*-produkt zatim reducira litijevim aluminijevim hidridom pri čemu nastaje glikol koji se demetilira i zatim dehidratira. Ovi koraci su prikazani na slici 29.



Slika 29. Prikaz prvoga dijela sinteze kolesterola

## § 2. Prikaz odabrane teme

U sljedećem koraku Claisenovom kondenzacijom nastaje hidroksi-metilen-keton nakon čega slijedi Michaelova adicija. Produkt se ciklizira uz pomoć kalijevog hidroksida. Tretmanom sa osmijevim tetraoksidom dobije se spoj koji u prisutnosti acetona daje derivat izopropilidena. Taj derivat se zatim katalitički reducira. (Slika 30.)



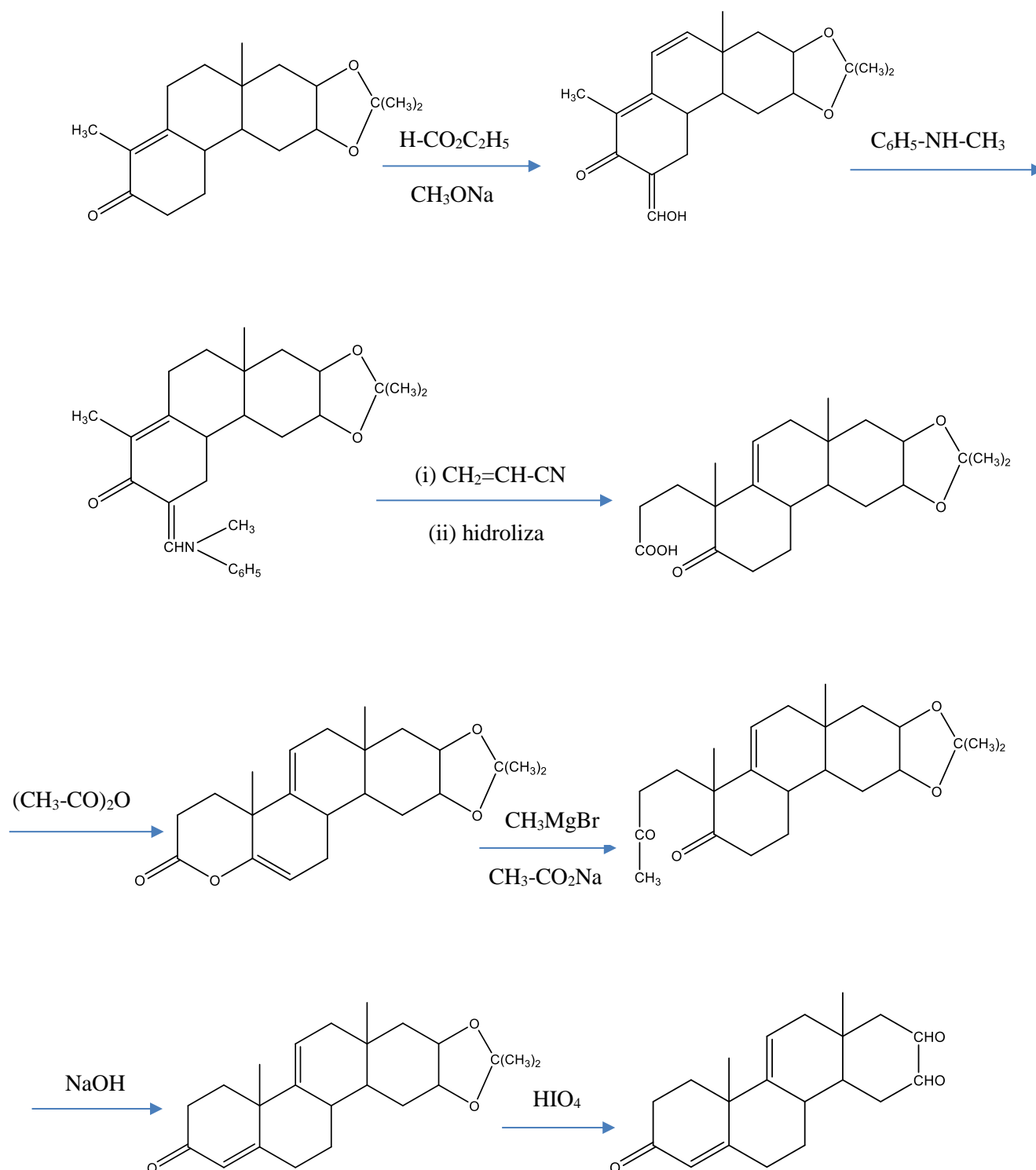
Slika 30. Prikaz drugoga dijela sinteze kolesterola

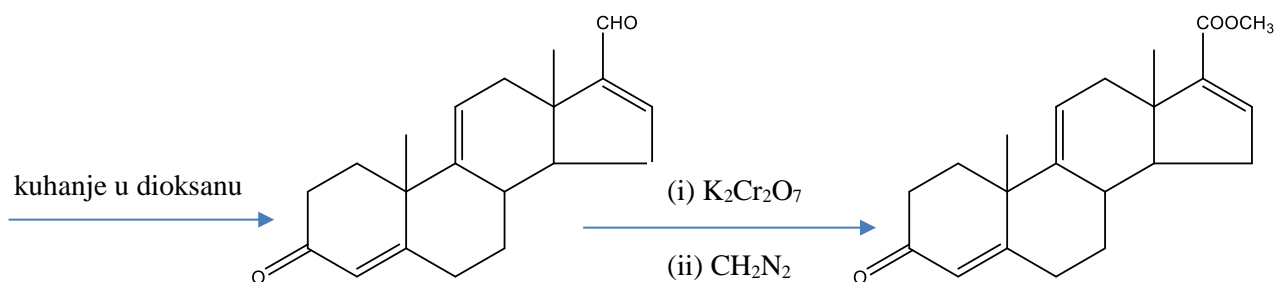
U prisutnosti natrijeva etoksida dolazi do kondenzacije sa etil-formatom. *N*-metil-anilin služi za zaštitu keto skupine. Nakon hidrolize se kao produkt dobije keto kiselina koja se prevodi u enol. Metil-magnezijev bromid se dodaje za uvođenje još jedne metilne skupine kako bi došlo do ciklizacije šesteročlanoga prstena uz pomoć natrijeva hidroksida.



## § 2. Prikaz odabrane teme

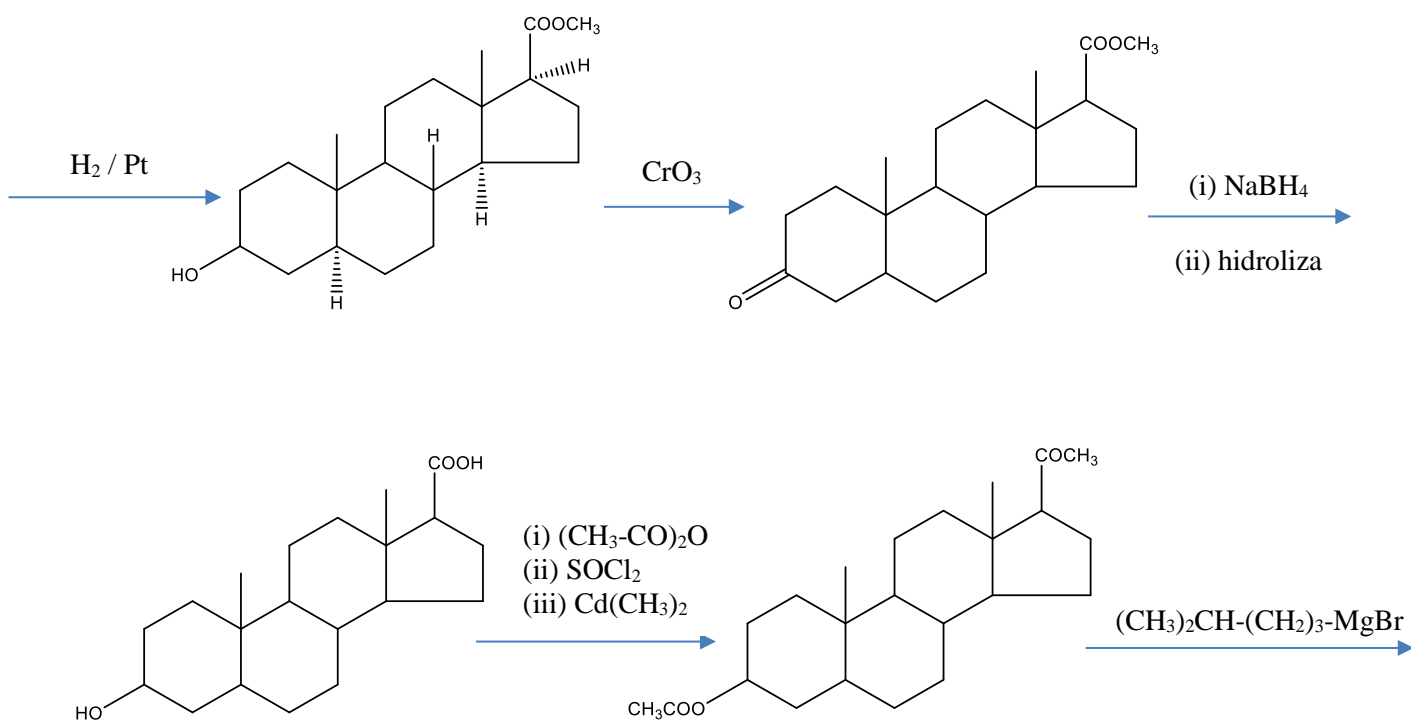
Spoj se zatim oksidira perjodnom kiselinom i kuha u dioksanu pri čemu nastaje keto-aldehidni spoj koji se ponovno oksidira i uz pomoć diazometana pretvara u ester. (Slika 31.)

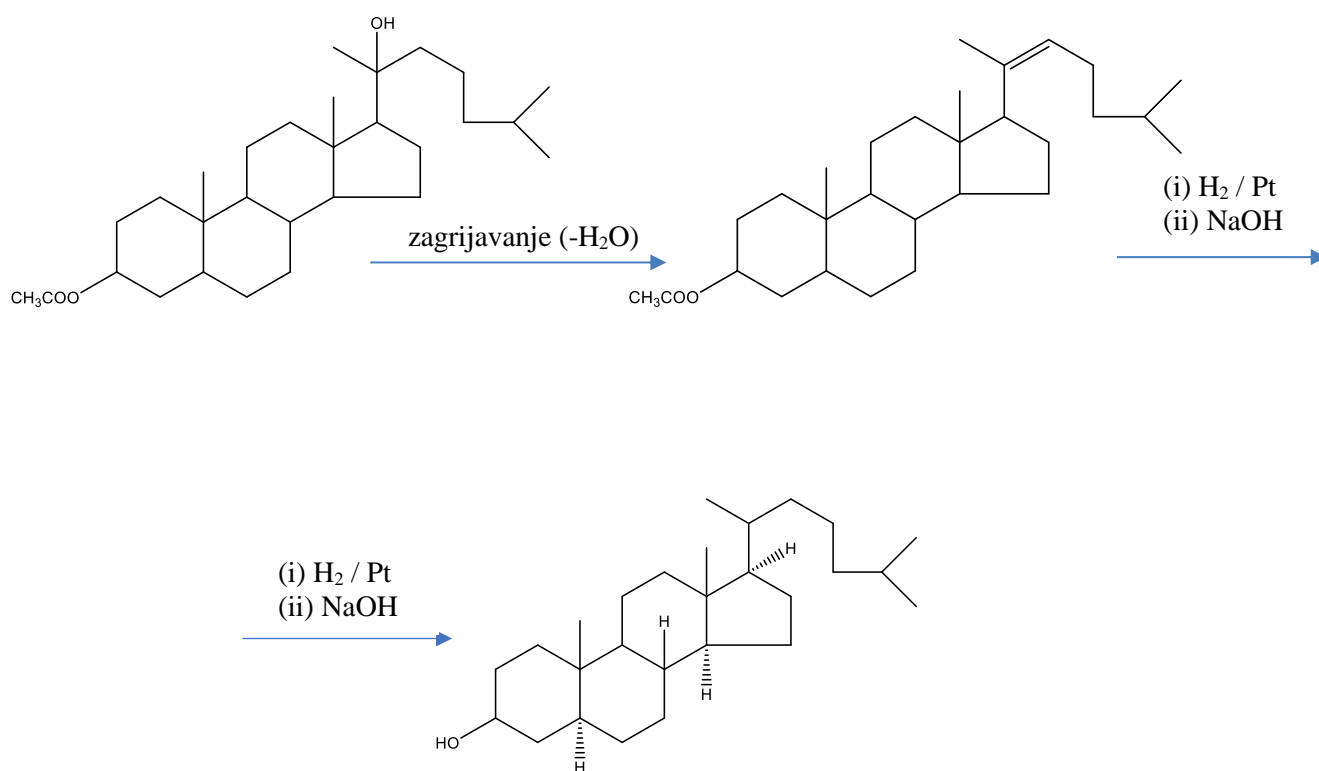




Slika 31. Prikaz trećeg dijela sinteze kolesterola

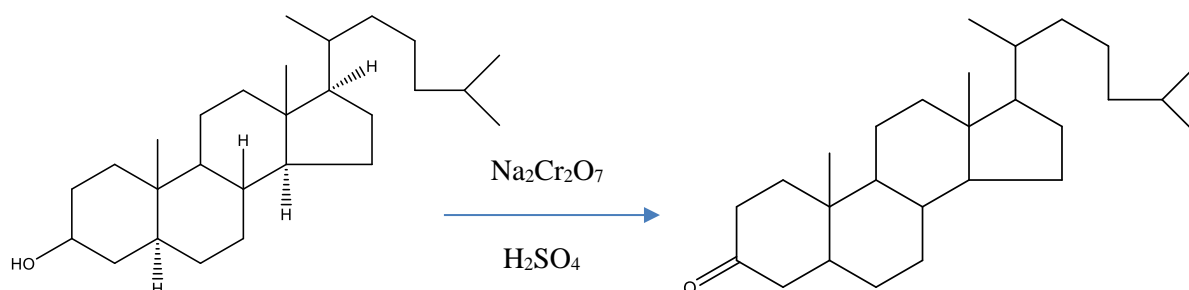
Sljedeći korak je katalitička redukcija nakon koje slijedi oksidacija pomoću kromova trioksida. Produkt se reducira natrijev borhidridom i zatim hidrolizira. Dobiveni  $\beta$ -izomer se prevodi u acetilirani hidroksi-keton uz pomoć tri reagensa. Za uvođenje šest novih C atoma dodaje se izohexilmagnezijev bromid. Spoj koji je nastao se zagrijava radi uklanjanja vode i zatim katalitički hidrogenira pri čemu nastaje kolestanol. (Slika 32.)



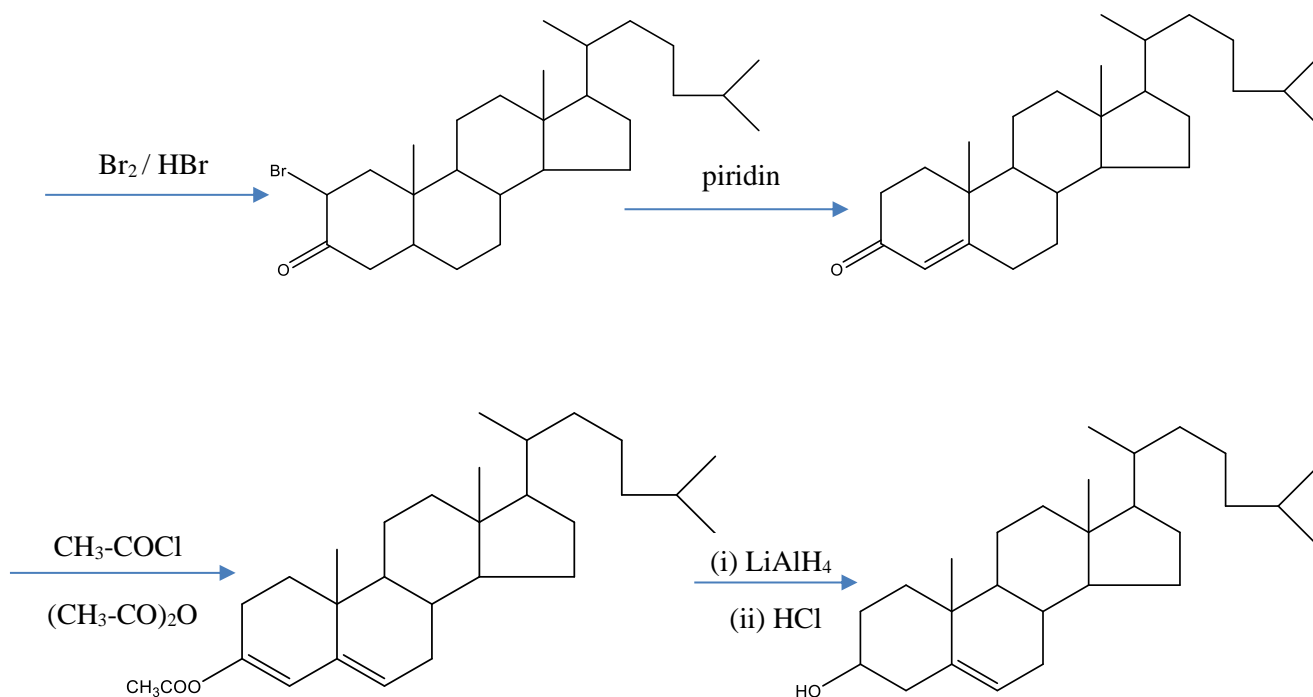


Slika 32. Prikaz četvrtoga dijela sinteze kolesterola

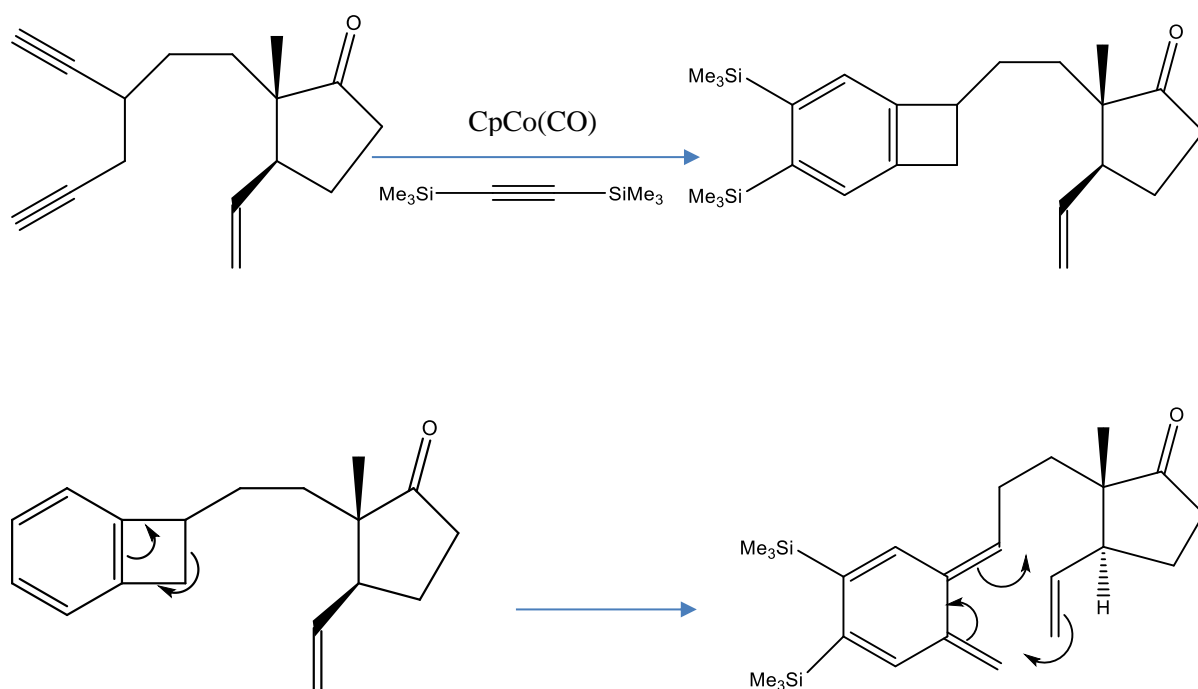
Posljednji korak sinteze kolesterola se sastoji od nekoliko reakcija pretvorbe kolestanola u kolesterol, a ti koraci su prikazani na slici 33.

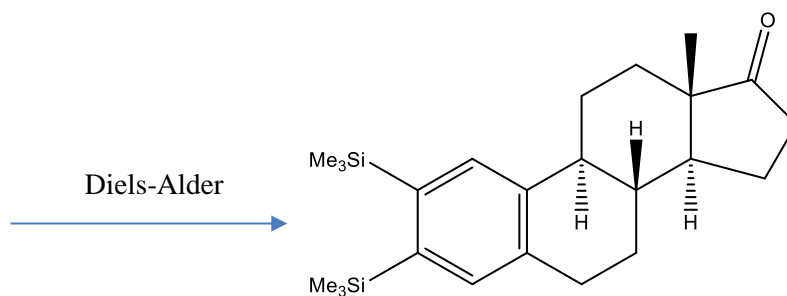


## § 2. Prikaz odabrane teme

Slika 33. Prikaz petoga dijela sinteze kolesterola <sup>1</sup>

Vollhardt je otkrio sintetski put kojim se može doći do steroidne jezgre na mnogo jednostavniji način. Taj put se sastoji od samo nekoliko koraka koji su prikazani na slici 34.





Slika 34. Vollhardtova sinteza steroida

Nakon nastanka benzociklobutena, zagrijavanje uzrokuje otvaranje četveročlanoga prstena i dolazi do Diels-Aldrove reakcije. Konačni produkt ove vrste sinteze ima steroidnu građu. Kako steroidi ne posjeduju  $\text{Me}_3\text{Si}$  supstituente, oni se s ovoga produkta mogu eliminirati te se tako dobije klasičan steroidni oblik.<sup>7</sup>

Na slici 35. je prikazana sinteza još jednoga steroida, kortizona. Na početku reakcije dolazi do Diels-Aldrove reakcije između 3-etoksi-1,3-pentadiena i *p*-benzokinona pri čemu nastaje prsten B, a sam *p*-benzokinon čini prsten C.

Nakon toga dolazi do hidrogeniranja dvostruke veze, a uz pomoć litijeva-natrijeva-hidrida se reduciraju karbonilne skupine. Nakon hidrolize dolazi do Robinsonove anelacije pri čemu nastaje prsten A.

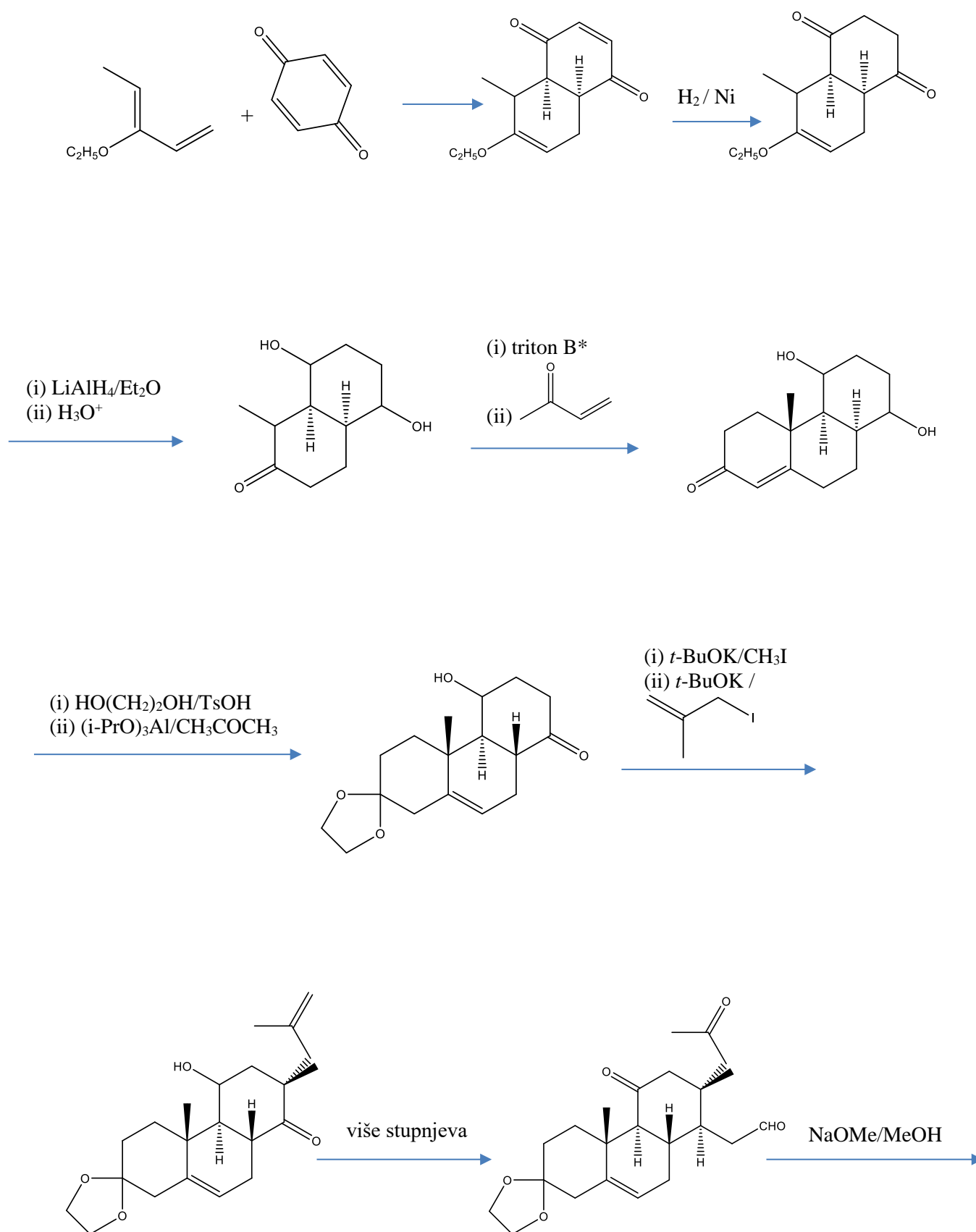
Na novonastalome prstenu A je potrebno zaštititi karbonilnu skupinu pretvarajući je u ciklički ketal, a oksidacijom jedne hidroksilne skupine se dobije jedna karbonilna skupina. Također dolazi do epimerizacije, a dvostruka veza podliježe izomerizaciji.

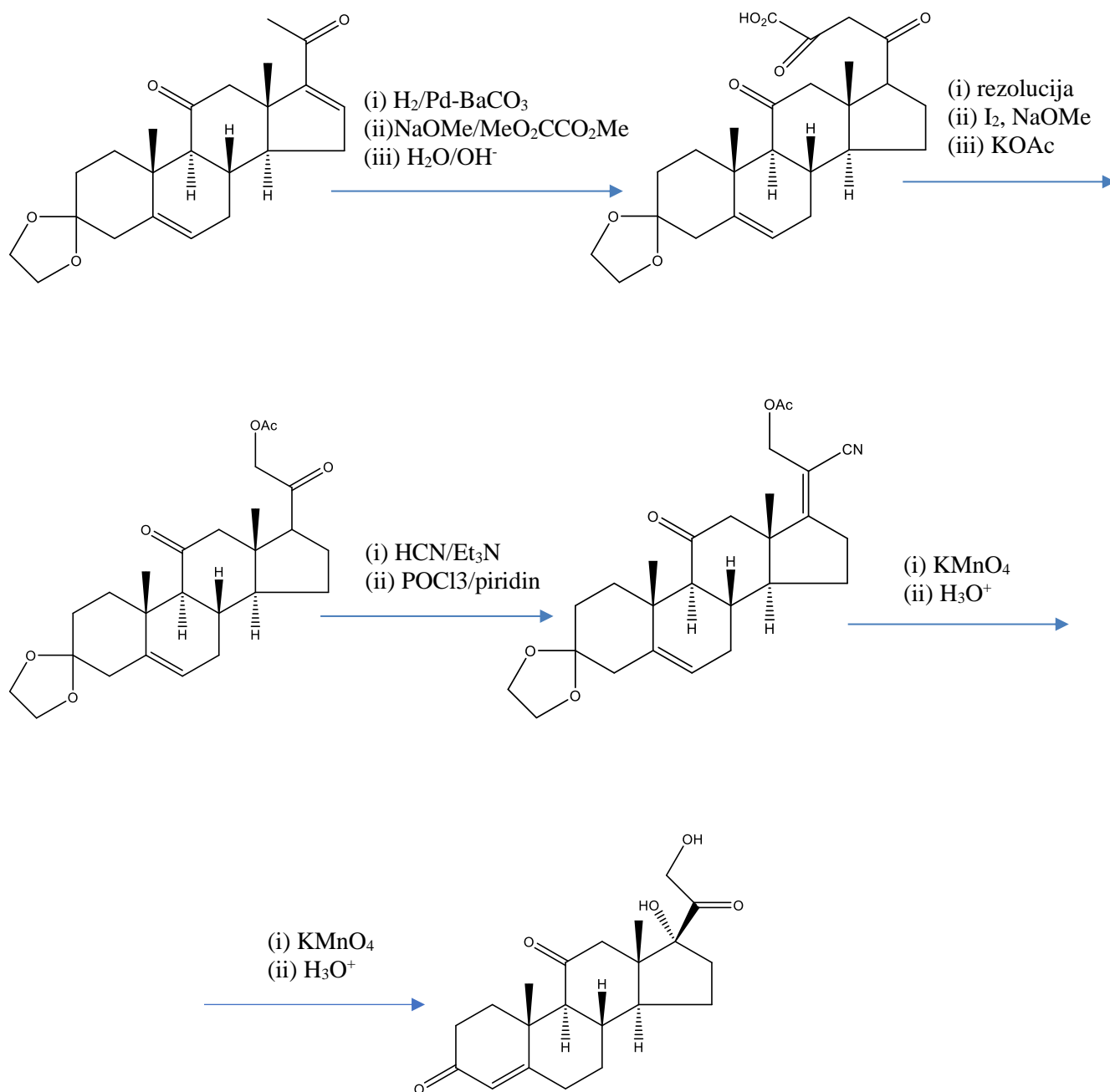
Prsten D nastaje alkiliranjem na  $\text{C}_{13}$  atomu te Grignardovom adicijom na  $\text{C}_{14}$  atomu nakon čega dolazi do nekoliko oksidacijskih i redukcijskih reakcija. Konačni korak u nastajanju prstena D čini intramolekulska aldolna reakcija pri čemu dolazi do zatvaranja prstena.

U sljedeća tri koraka dolazi do redukcije dvostuke veze ( $\Delta^{16}$ ), Claisenove kondenzacije te hidrolize pri čemu nastaje karboksilna skupina. Na dobivenom ketoacetatu se vrši adicija HCN, a dehidratiranjem se dobije nitril.

U posljednjem koraku sinteze dolazi do hidrolize koja uklanja zaštitne skupine i nastaje steroid kortizon.

## § 2. Prikaz odabrane teme



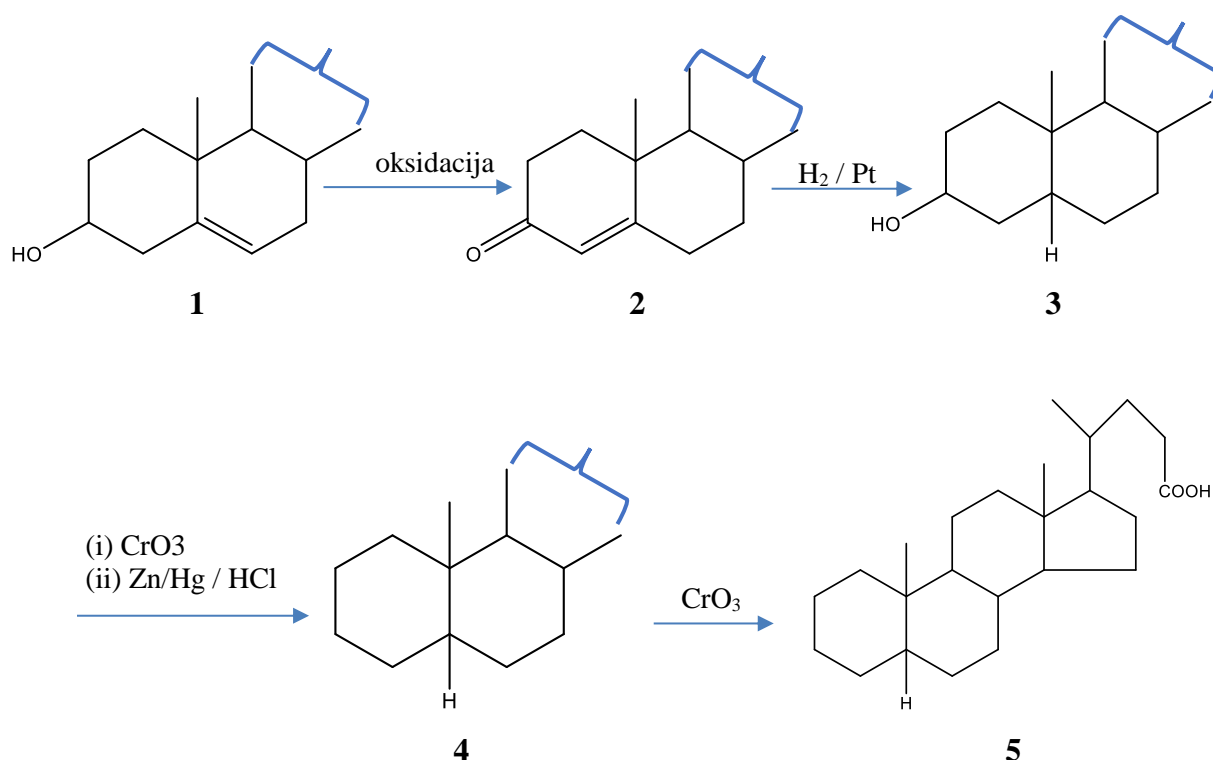
Slika 35. Prikaz sinteze steroida kortizona <sup>3</sup>

## § 6. BIOLOŠKI VAŽNI STEROIDI

### 6.1. Žučne kiseline

Strukture nekih žučnih kiselina su prikazane na slici 4. One se pojavljuju u žuči u obliku žučnih soli, a funkciju pronalaze u probavnom sustavu gdje potpomažu prilikom apsorpcije masti i vitamina. Zbog polarnoga bočnoga lanca, na kojemu karboksilna skupina ostvaruje amidnu vezu sa aminokiselinom (taurinom ili glicinom), i zbog nepolarne steroidne jezgre, žučne kiseline podsjećaju na detergente.<sup>4</sup> Dnevno se u jetri sintetizira oko 0,2-0,6 g žučnih kiselina.<sup>14</sup> Postoje žučne kiseline koje su sintetizirane, a isto tako postoji i dvadesetak prirodnih žučnih kiselina. Hidroksilna skupina se najčešće nalazi na položaju 3, 6, 7, 11, 12 ili 23.

Sinteza jedne poznate žučne kiseline, kolne kiseline, je prikazana na slici 36. Glavni prekursor u sintezi žučnih kiselina je kolesterol. Kolna kiselina se također može dobiti iz litokolne kiseline tako da se litokolna kiselina najprije dehidratira, a zatim katalitički hidrogenira.



Slika 36. Prikaz sinteze kolne kiseline (**1**-kolesterol, **2**-kolest-4-en-3-on, **3**-koprostanol, **4**-koprostan, **5**-kolna kiselina) <sup>1</sup>



Antioksidativna i hepatoprotektivna svojstva karakterizacija su spoja ( $C_{27}H_{47}NaO_9S$ ) koji nastaje iz žuči morskoga psa, a polazni spoj za njegovu sintezu potječe od kolne kiseline.

Ulogu stabilizacije integralnih membranskih proteina imaju derivati kolne kiseline koji na  $C_7$  i  $C_{12}$  atomu imaju dodatne skupine. Neki konjugati žučnih kiselina se koriste za prepoznavanje stanica raka.<sup>15</sup>

Biokemijska uloga žučnih kiselina podrazumijeva vezanje na nuklearne receptore, kao signalne molekule, čime moduliraju transkripciju gena za neke transportne proteine i enzime koji imaju ulogu u homeostazi kolesterola i samih žučnih kiselina.<sup>16</sup> One isto tako sudjeluju i u aktivaciji protein kinaze C, mobilizaciji kalcija i u sintezi cikličkoga AMP-a.<sup>17</sup>

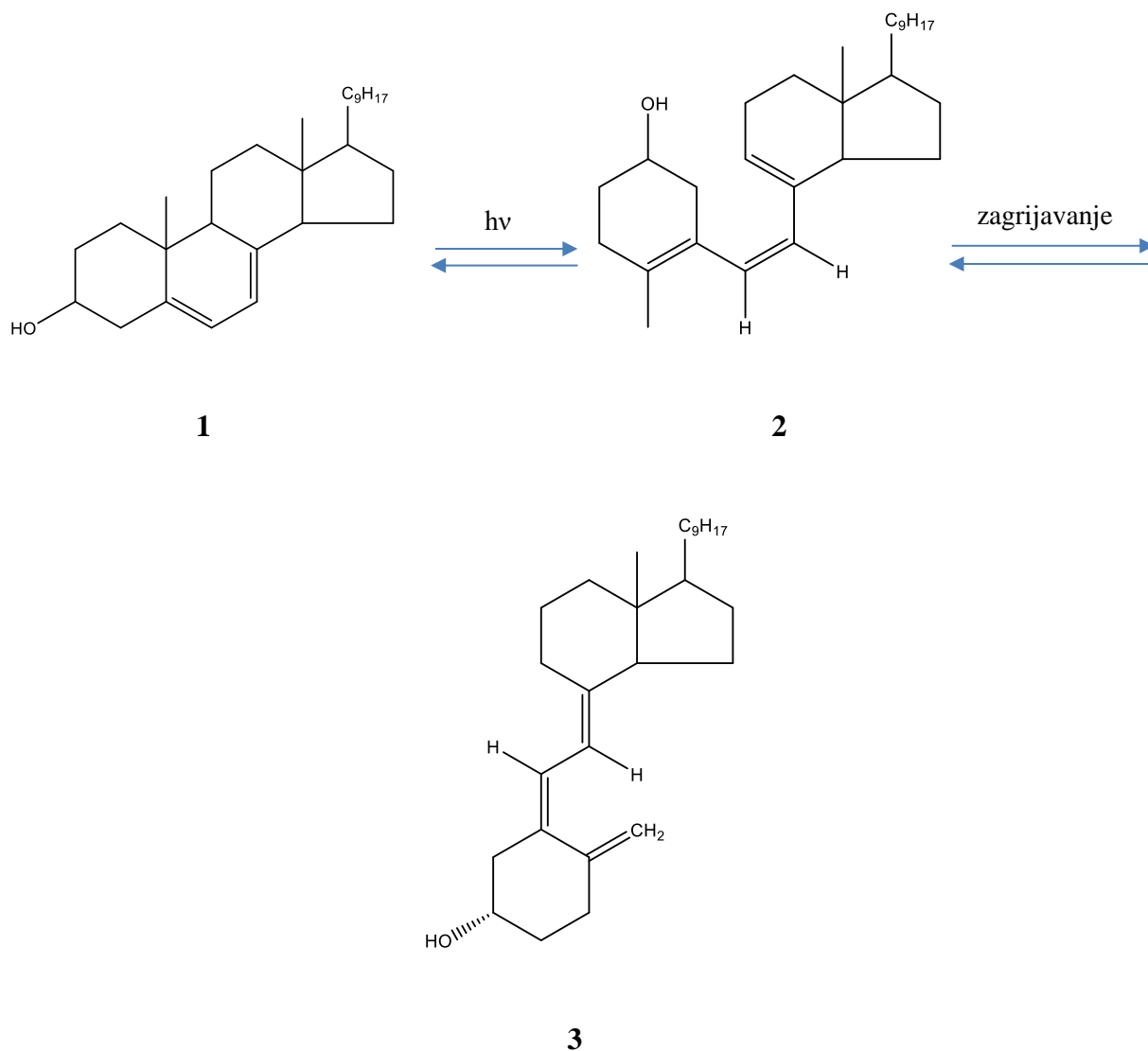
## **6.2. Vitamin D**

Ovaj vitamin ima važnu funkciju kod rasta kostiju te kod metabolizma fosfora i kalcija. Još se naziva i antirahitičnim vitaminom.<sup>1</sup> Nedostatak vitamina D uzrokuje rahitis, ometani rast, deformacije kostura i osteomalaciju.

Ulje iz riblje jetre obiluje vitaminom D, a njegovu proizvodnju uzrokuje i izlaganje kože suncu.<sup>2,18</sup> Metaboliti vitamina D do krvi dolaze uz pomoć vitamin D-veznih proteina s kojima ostvaruju nekovalentne interakcije.<sup>19</sup>

Kolesterol je preteča i vitamina D. Strukturne formule nekih vitamina D su prikazane na slici 3., a sinteza ergokalciferola ili vitamina  $D_2$  je prikazana na slici 37.

Ako se ergosterol izloži zračenju, dolazi do elektrocikličkoga fotopregrađivanja i nastaje spoj koji je preteča ergokalciferola, proergokalciferol. Njegovim daljnjim zagrijavanjem nastaje produkt ergokalciferol koji je kristalna krutina.<sup>1,3</sup> Vitamin  $D_2$  se može pronaći kod gljiva koje su izložene suncu zbog toga što one sadrže mnogo ergosterola.<sup>18,20</sup>



Slika 37. Prikaz sinteze vitamina D<sub>2</sub> ili ergokalciferola (**1**-ergosterol, **2**- proergokalciferol, **3**-ergokalciferol)

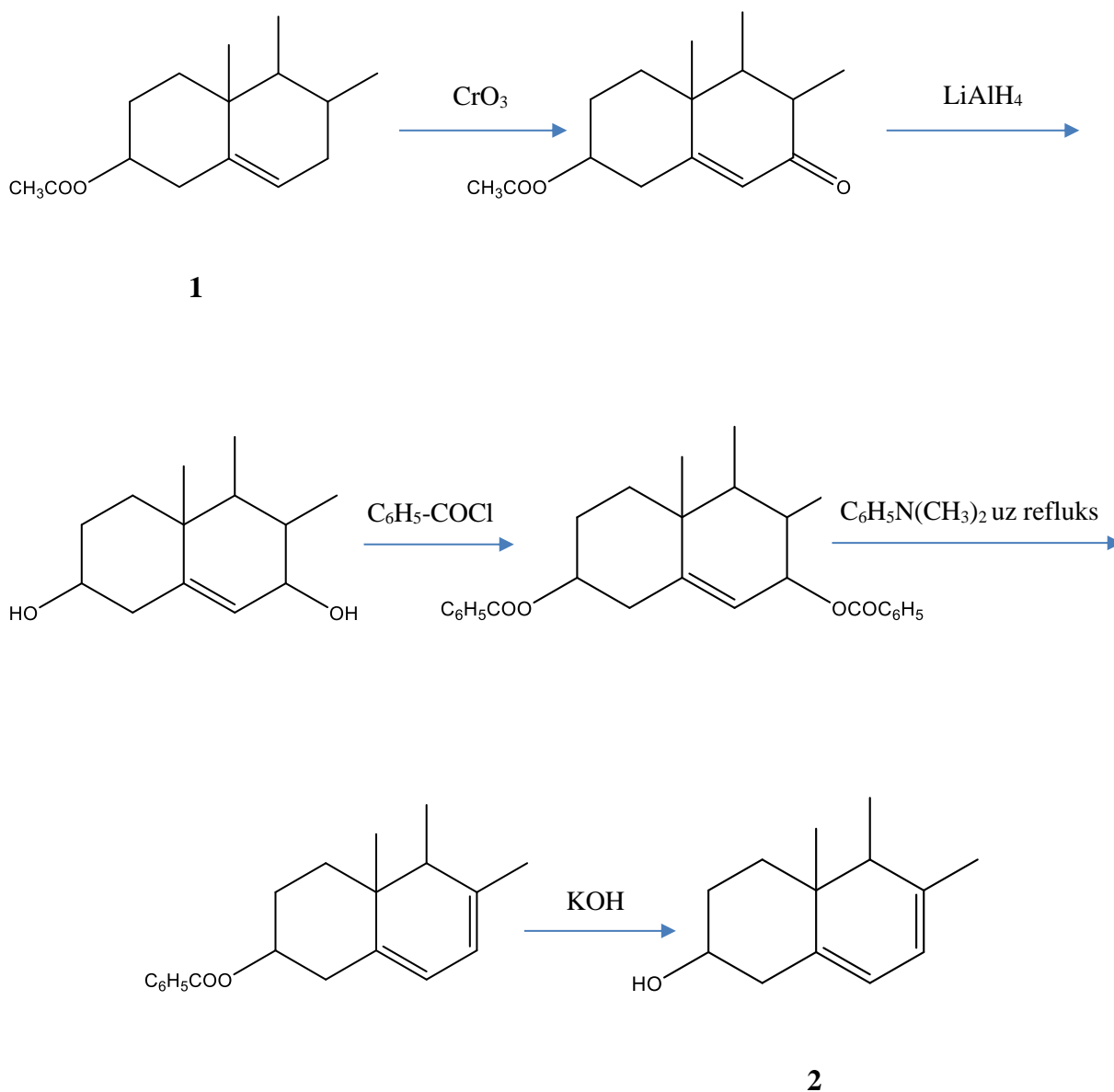
Prilikom dobivanja vitamina D<sub>3</sub> ili kolekalciferola kao polazni spoj se koristi 7-dehidrokolesterol. Njegova sinteza je prikazana na slici 38.<sup>1</sup> Kada se 7-dehidrokolesterol izloži ultraljubičastome zračenju nastaje provitamin D<sub>3</sub> koji se izomerizira u vitamin D<sub>3</sub>.<sup>2</sup>

Međutim, ovaj oblik vitamina D<sub>3</sub> nije aktivan stoga ga je potrebno najprije hidroksilirati pomoću enzima u jetri do kalcidiola, a zatim pomoću enzima u bubrezima do kalcitriola koji predstavlja aktivirani oblik vitamina D<sub>3</sub>. (Slika 39.).<sup>4</sup>

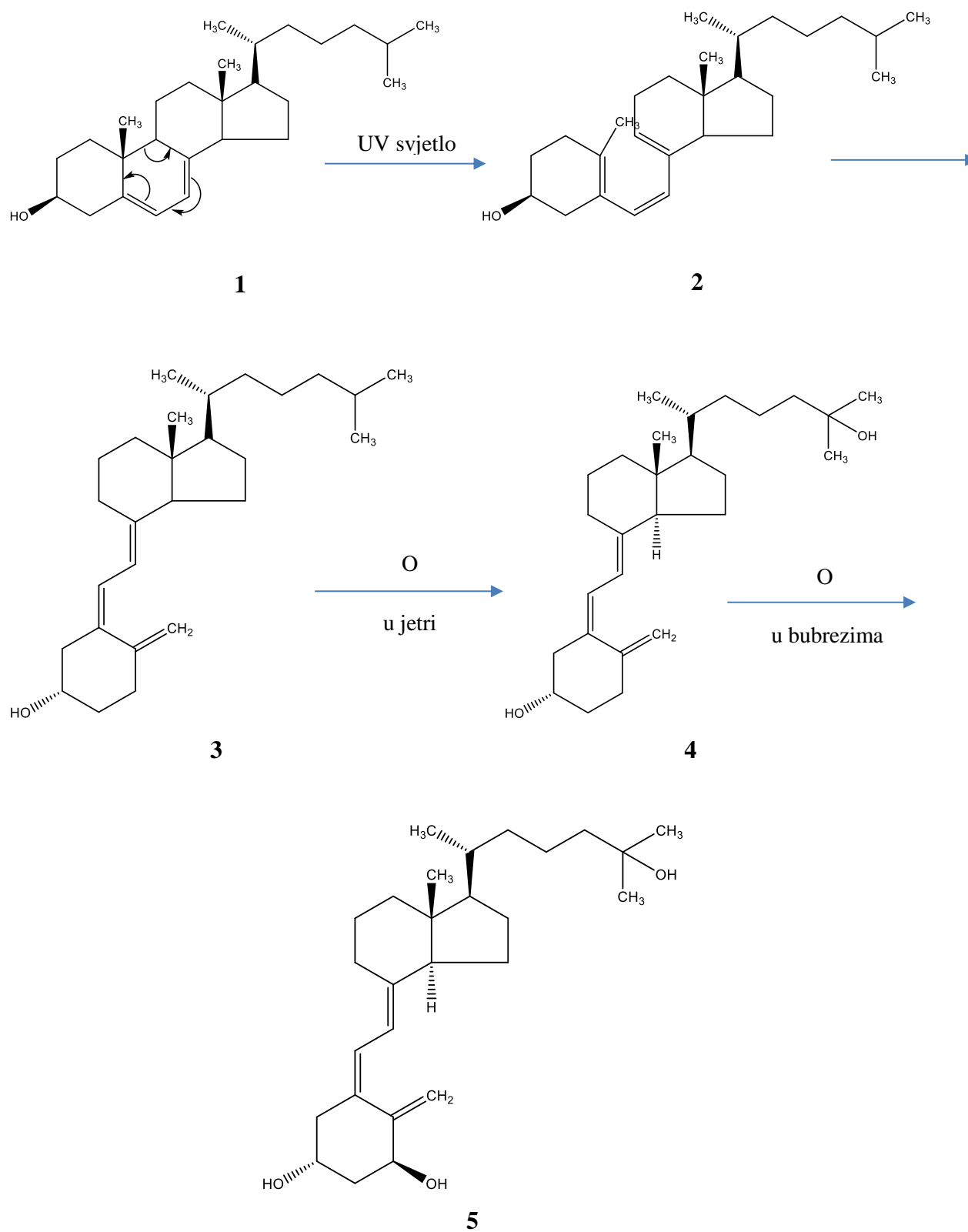
Kalcitriol je topljiv u mastima i zbog toga svojstva on utječe na metabolizam kalcija i kostiju vežući se na nuklearne receptore za vitamin D.<sup>20</sup>

Vitamin D<sub>3</sub> se može pronaći kod riba kao što su skuša, losos i haringa, a to su ribe koje su bogate uljem.<sup>18</sup> Isto tako je prisutan i u mliječnim proizvodima kao što su vrhnje, maslac i mlijeko.<sup>4</sup>

Vitamin D<sub>4</sub>, koji ima antirahitičko svojstvo, se može dobiti tako da se spoj 22,23-dihidroergosterol izloži zračenju.



Slika 38. Prikaz sinteze 7-dehidrokolesterola (1-kolesteril acetat, 2-7-dehidrokolesterol)<sup>1</sup>

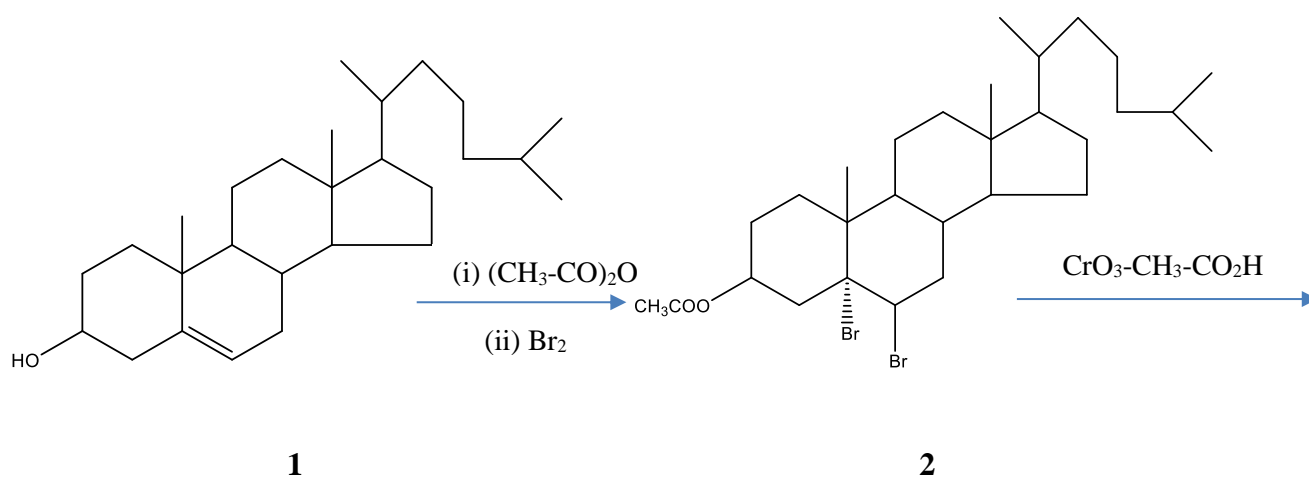


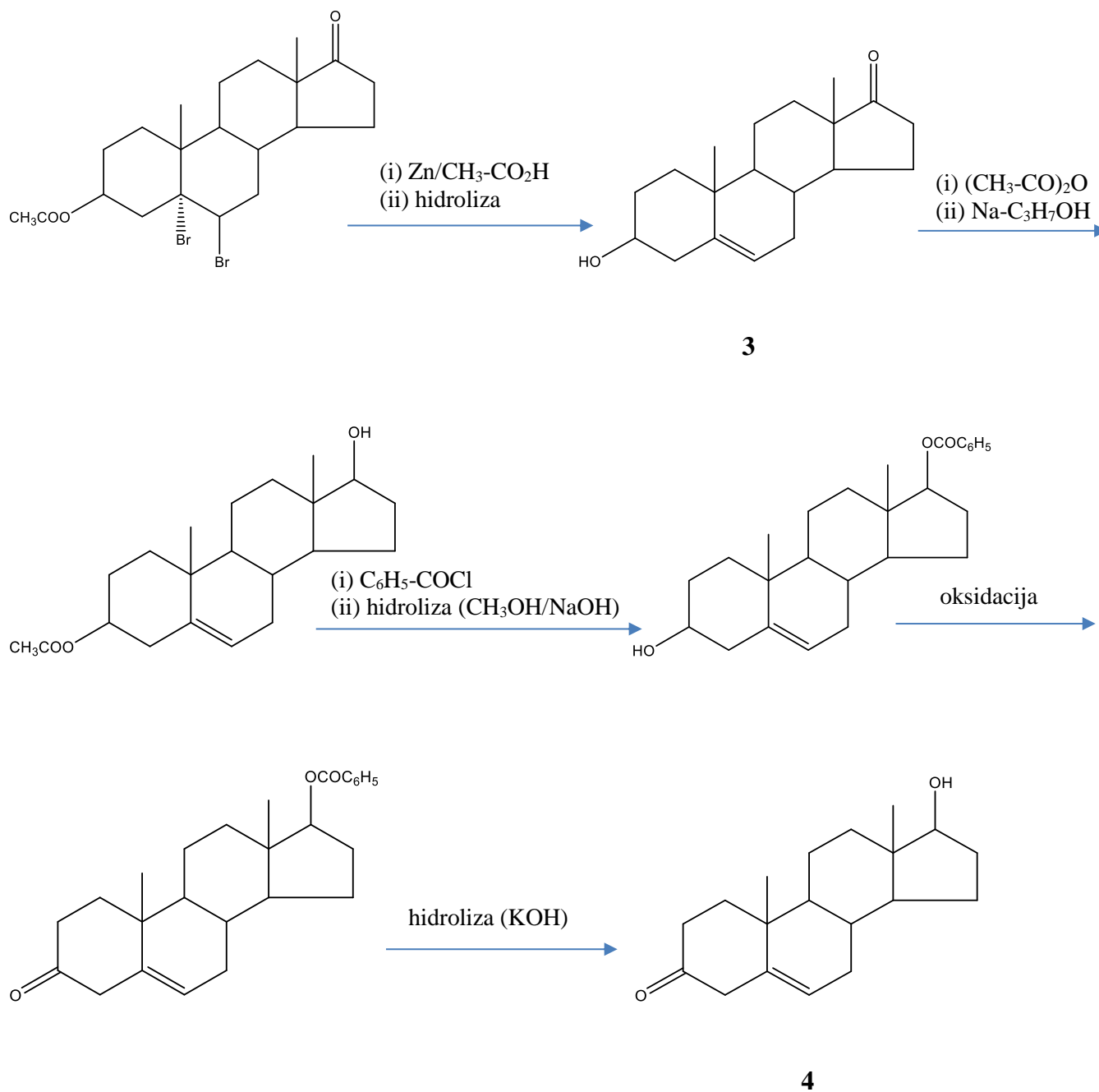
Slika 39. Prikaz sinteze vitamina D<sub>3</sub> (**1**-7-dehidrokolesterol, **2**-provitamin D<sub>3</sub>, **3**-vitamin D<sub>3</sub>, **4**-kalcidiol, **5**-kalcitriol) <sup>4</sup>

### 6.3. Spolni hormoni

Spolne hormone dijelimo na muške (androgene), ženske (estrogene) i gestagene. Neke njihove strukturne formule su prikazane na slici 5. Svi spolni hormoni nastaju iz kolesterola, a proizvode ih spolne žlijezde. “Ti su steroidni hormoni odgovorni za razvoj sekundarnih spolnih karakteristika sisavaca”.<sup>3</sup> Razne kardiovaskularne bolesti, osteoporoza, rak, srčani udar i dijabetes samo su neki od bolesti koje su povezane sa razinom spolnih hormona u organizmu.<sup>21</sup> Receptori za spolne hormone se nalaze u krvnim žilama, unutar stanične membrane i citoplazme vaskularnih stanica.<sup>20</sup>

Na slici 40. je prikazan primjer sinteze jednog spolnog hormona, testosterona. U svojoj strukturi on ne posjeduje bočni lanac, ali na C<sub>17</sub> atomu ima hidroksilnu skupinu kao i estradiol. Androgeni hormoni imaju i anaboličku aktivnost koja utječe na pohranu proteina, na rast mišića i kostiju. Testosteron je odgovoran za muške spolne karakteristike. On se može koristiti kao lijek za mušku impotenciju uzrokovanu hipogonadizmom i za liječenje raka dojke koji je ovisan o estrogenu. Testosteron je potrebno injektirati u obliku estera, budući da se lako metabolizira u jetri i stoga se on nalazi u inaktivnome obliku ako se uzima oralno.<sup>4</sup> On utječe i na krvni tlak tako što ga povećava aktivacijom renin-angiotenzinog sustava.<sup>22</sup>





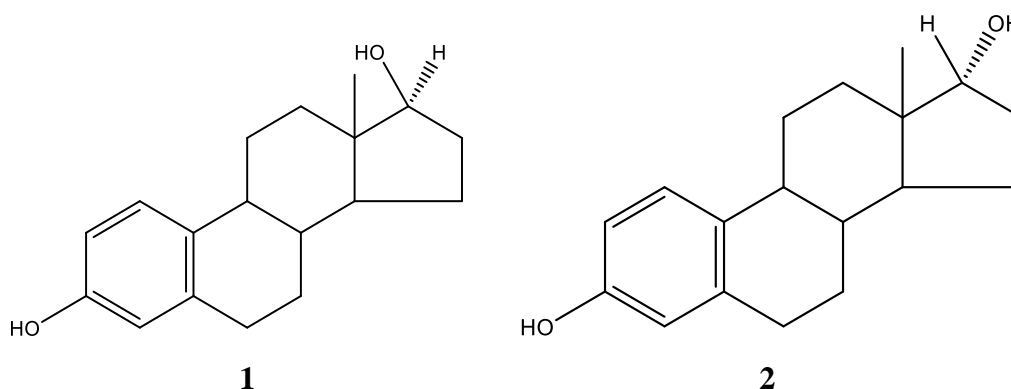
Slika 40. Prikaz sinteze testosterona (1-kolesterol, 2-kolesterolil-acetat-dibromid, 3-dehidroepiandrosteron, 4-testosteron)

Ženski spolni hormoni su estron, estriol i estradiol. Oni su odgovorini za ženske spolne karakteristike. Proizvode ih jajnici i posteljica tijekom trudnoće, a vrlo male količine se proizvode i u muškim testisima.

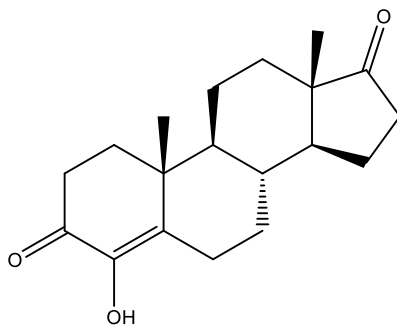
Estrogeni se mogu koristiti kao lijek za menstrualne poremećaje, za inhibiciju proizvodnje androgena (čime se može liječiti rak prostate čiji rast ovisi o androgenima) te za sprječavanje pojave osteoporoze ili Alzheimerove bolesti kod žena. Visoke koncentracije estrogena u ranim fazama raka dojke ili maternice su štetne jer razvitak raka ovisi o količini estrogena. Estron i estriol su hormoni koji su manje aktivni i koriste se u hormonskoj nadomjesnoj terapiji.<sup>4</sup> Estradiol sprječava otpuštanje renina i angiotenzinog enzima.<sup>23</sup> Formestan (Slika 42.) je prvi otkriveni inhibitor sinteze estrogena koji se uzima kao lijek za napredni rak dojke.<sup>4</sup>

Uz pomoć rentgenskoga zračenja je dokazano da ženski spolni hormoni posjeduju steroidnu jezgru.<sup>1</sup> Karakteristično za njihovu strukturu je da ne posjeduju bočni lanac, a prsten A im je aromatičan i odgovoran za aktivnost.<sup>4</sup> Prisutnost benzenskoga prstena u strukturama ovih hormona također je dokazana spektroskopski. Estron se može prevesti u estradiol katalitičkom hidrogenacijom uz pomoć aluminijskoga izopropoksida. Estradiol ima dva stereoizomera (Slika 41.),  $\alpha$  i  $\beta$ .  $\alpha$ -estradiol ima puno veću aktivnost od  $\beta$ -estradiola.<sup>1</sup>

Progesteron je gestageni hormon i on pripada vrsti ženskih spolnih hormona.<sup>4</sup> On utječe na ovulaciju i na oplodnju te isto tako ima ulogu u pripremi maternice za trudnoću i osigurava sve potrebne uvjete za trudnoću.<sup>3,4</sup> Njega možemo pronaći i u biosintezi kortikosteroida gdje se pojavljuje kao intermedijer.<sup>4</sup>



Slika 41. Stereoizomeri estradiola (**1**- $\alpha$ -estradiol, **2**- $\beta$ -estradiol)<sup>1</sup>



Slika 42. Strukturna formula formestana (4-hidroksi derivat androstendiona) <sup>4</sup>



## LITERATURNI IZVORI

---

<sup>1</sup> I. L. Finar, *Organic chemistry*, II. knjiga, 4. izdanje, Longmans, London, 1967, str. 441-523.

<sup>2</sup> J. M. Berg, J.L.Tymoczko, L.Stryer, *Biokemija*, 1. hrvatsko izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 2013

<sup>3</sup> S. H. Pine, *Organska kemija*, 3. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1994

<sup>4</sup> P. M. Dewick, *Medicinal Natural Products*, 2. izdanje, John Wiley & Sons Ltd, UK, 2002, str. 232-285.

<sup>5</sup> <http://www.pmf.unsa.ba/hemija/files/Katedra%20za%20organsku%20hemiju%20i%20biohemiju/Predmeti%20KOHBI/I ciklus/II godina/Uvod u biohemiju/stanicna membrana.pdf>  
(datum pristupa 21. Kolovoza 2018.)

<sup>6</sup> I. Levitan, D. K. Singh, A. Rosenhouse-Dantsker, Cholesterol binding to ion channels, *Frontiers in physiology* **5** (2014) 65. članak

<sup>7</sup> Clayden, Greeves, Warren, Wothers, *Organic chemistry*, 2. izdanje, Oxford University Press, 2012

<sup>8</sup> M. Florkin, H. S. Mason, *Comparative biochemistry*, III. knjiga, Academic press, New York, 1962, str.110.

<sup>9</sup> H. C. Rilling, L. T. Chayet, *New comprehensive biochemistry-sterols and bile acids*, 12. knjiga, Elsevier science publishers B.V., New York, 1985, str. 2-13.

<sup>10</sup> D. L. Nelson, M. M. Cox-Lehninger, *Principles of biochemistry*, 7. izdanje, W. H. Freeman and Company, New York, 2017, str. 2216-2225.

<sup>11</sup> R. B. Clayton, Biosynthesis of sterols, steroids, and terpenoids. Part I. Biogenesis of cholesterol and the fundamental steps in terpenoid biosynthesis, *Quarterly Reviews, Chemical society* **19** (1965) 168-200.

<sup>12</sup> R. P. Cook, *Cholesterol: Chemistry, Biochemistry and Pathology*, Academic press, New York, 1958, str. 32-77.

<sup>13</sup> L.Velluz, J.Valls, G.Nomine, Recent advances in the total synthesis of steroids, *Angewandte chemie International Edition*, **4** (1965) 181-270.

---

<sup>14</sup>J. Y. L. Chiang, Bile acids-regulation of synthesis, *The Journal of Lipid Research*, **50** (2009) 1955-1966.

<sup>15</sup>J. R. Hanson, Steroids: Partial synthesis in medicinal chemistry, *Natural Product Reports*, **27** (2010) 887-899.

<sup>16</sup>T. Maruyama, Y. Miyamoto, T. Nakamura, Identification of membrane-type receptor for bile acids, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **298** (2002) 714-719.

<sup>17</sup>A. Nguyen, B. Bouscarel, Bile acids and signal transduction: role in glucose homeostasis, *Cellular Signalling*, **20** (2008) 2180 – 2197.

<sup>18</sup>M. F. Holick, N. C. Binkley, H. A. Bischoff-Ferrari, Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **96** (2011) 1911-1930.

<sup>19</sup>H. Reichel, H. P. Koeffler, A. V. Norman, The role of vitamin D endocrine system in health and disease, *The new England Journal of medicine*, **320** (1989) 980-991.

<sup>20</sup>J. M. Orshal, R. A. Khalil, Gender, sex hormones and vascular tone, *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **286** (2004) 233-249.

<sup>21</sup>R. L. Ferrini, E. Barrett-Connor, Sex hormones and age: A Cross-sectional Study of Testosterone and Estradiol and Their Bioavailable Fractions in Community-dwelling Men, *American Journal of Epidemiology*, **147** (1998) 750-754.

<sup>22</sup>J. F. Reckelhoff, Gender differences in the regulation of blood pressure, *Hypertension*, **37** (2001) 1199–1208.

<sup>23</sup>Y. Takeda-Matsubara, H. Nakagami, M. Iwai, T. X. Cui, T. Shiuchi, M. Akishita, Estrogen activates phosphatases and antagonizes growth-promoting effect of angiotensin II, *Hypertension*, **39** (2002) 41–45.